



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PENERIMAAN NEGARA BUKAN PAJAK
TAHUN ANGGARAN 2005

EFEKTIVITAS ANTIDIABETIK VANADIL SULFAT PADA MENCIT YANG MENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2

Oleh:

**Drs. Didik Hasmono, M.S.
Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D.
Drs. Sumarno, Sp.FRS.**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Dana Penerimaan Negara Bukan Pajak Tahun 2005,
Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga
Nomor 4683/J03/PP/2005
Tanggal 4 Juli 2005
Nomor Urut : 27

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

November, 2005

- HYPOGLYCEMIC AGENTS
- DIABETES



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PENERIMAAN NEGARA BUKAN PAJAK
TAHUN ANGGARAN 2005

EFEKTIVITAS ANTIDIABETIK VANADIL SULFAT PADA MENCIT YANG MENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2

KKB
KK-2
4p 133/08
Has
e

Oleh:

Drs. Didik Hasmono, M.S.
Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D.
Drs. Sumarno, Sp.FRS.

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana Penerimaan Negara Bukan Pajak Tahun 2005,
Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga
Nomor 4683/J03/PP/2005
Tanggal 4 Juli 2005
Nomor Urut : 27

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November, 2005



Oktober 2005
IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. Judul Penelitian	: Efektivitas antidiabetik vanadil sulfat pada menciit yang menderita <i>diabetes mellitus</i> tipe 2
a. Macam Penelitian	: <input type="checkbox"/> Fundamental <input type="checkbox"/> Terapan <input type="checkbox"/> Pengembangan
b. Kategori Penelitian	: <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III
2. Kepala Proyek Penelitian	
a. Nama Lengkap dan Gelar	: Drs. Didik Hasmono, MS.
b. Jenis Kelamin	: Pria
c. Pangkat/Golongan/NIP	: Lektor / IIC / 131570355
d. Jabatan Sekarang	: Staf Pengajar
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Farmasi
f. Universitas/Inst./Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu yang Diteliti	: Ilmu Biomedik Farmasi
3. Jumlah Tim Peneliti	: 3 Peneliti
4. Lokasi Penelitian	: Ilmu Biomedik Farmasi
5. Kerjasama dengan Instansi lain	: -
a. Nama Instansi	: -
b. Alamat	: -
c.	
6. Jangka Waktu Penelitian	: 6 Bulan
7. Biaya yang Diperlukan	: Rp. 6.250.000,-
8. Seminar Hasil Penelitian	:
a. Dilaksanakan tanggal	: () Baik Sekali (<input checked="" type="checkbox"/>) Baik
b. Hasil Penelitian	: () S e d a n g () Kurang

Surabaya, 28 Oktober 2005

Mengetahui/ Mengesahkan

a.n. Rektor

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
 Universitas Airlangga,



(Handwritten signature)

Prof. Dr. H. Sarmanu, MS

NIP 130 701 125

RINGKASAN

Diabetes adalah suatu kelainan metabolik yang bersifat kronik dimana terjadinya peningkatan kadar gula dalam darah. Di negara maju seperti Amerika Serikat tingkat prevalensi lebih dari 7 % atau sekitar 18.2 juta penduduk. Jumlah ini diprediksi akan terus meningkat dari tahun ke tahun mengikuti gaya hidup, tingkat obesitas, lamanya harapan hidup dan polusi udara yang semakin tinggi. Sebagai akibatnya biaya pelayanan kesehatan yang menjadi tanggungan pemerintah menjadi sangat besar. Biaya ini akan semakin tinggi bila disertai komplikasi dengan penyakit yang lain.

Dewasa ini penggunaan obat antidiabetik ditujukan untuk menambah jumlah insulin dalam darah dengan memberikan insulin dari luar pada penderita *diabetes mellitus* tipe 1 (*insulin dependent diabetes mellitus*), memacu pengeluaran insulin dari sel β -pankreas dan mengatur metabolisme karbohidrat pada sel otot atau jaringan adiposa untuk *diabetes mellitus* tipe 2 (*non insulin dependent diabetes mellitus*). Sehingga penderita diabetes harus menggunakan obat-obat tersebut dalam jangka lama atau selama hidupnya. Akibatnya akan timbul berbagai efek samping, terjadinya penurunan resistensi reseptor insulin, toleransi glukosa dan biaya yang sangat besar. Untuk itu diperlukan terobosan baru untuk mendapatkan metode penanganan *diabetes mellitus* yang lebih baik dan lebih spesifik. Laporan terbaru menunjukkan bahwa resistensi insulin terjadi karena adanya desensitisasi reseptor insulin sebagai akibat adanya autofosforilasi atau fosforilasi tirosin pada reseptor insulin. Untuk itu perlindungan tirosin dari fosforilasi atau fosfatasi mempunyai arti sangat penting dalam mencegah terjadinya resistensi. Pada penelitian ini dilihat efektifitas penghambat tirosin fosfatase pada penurunan gula darah pada mencit yang menderita *diabetes mellitus*.

Untuk membuat model *diabetes mellitus*, mencit jantan galur ICR berumur 10 minggu di injeksi tunggal streptozotosin secara intraperitoneal pada dosis 50-150 mg/kg. Kadar glukosa darah diukur secara periodik dengan menggunakan *glucose analyzer kit*. Vanadil sulfat diberikan secara sub-kutan sekali sehari selama 7 hari pada mencit yang menderita *diabetes mellitus*. Efektivitas vanadil sulfat dalam menurunkan kadar glukosa darah diukur pada hari 0, 1, 3, 5, 7 dan 14 setelah pemberian.

Pada pemberian streptozotosin dosis rendah (50 mg/kg) dapat menginduksi terjadi *diabetes mellitus* sebesar 60 % dari populasi mencit. Sementara dengan peningkatan dosis streptozotosin akan meningkatkan prevalensi terjadinya *diabetes mellitus*. Berdasarkan data penelitian ini dosis yang paling optimal untuk menghasilkan *diabetes mellitus* tanpa menimbulkan kematian pada mencit adalah 100 mg/kg.

Pada induksi streptozotosin 50 mg/kg menunjukkan peningkatan kadar gula darah secara bermakna dari 130.1 ± 6.3 menjadi 185.6 ± 25.4 mg/dl pada hari ke 7 setelah injeksi ($p < 0.001$). Sementara pemberian streptozotosin 100 mg/kg meningkatkan kadar gula darah secara bermakna dari 132.9 ± 11.1 menjadi 302.6 ± 20.8 mg/dl ($p < 0.0001$). Peningkatan kadar gula darah juga naik secara drastis dari 130.5 ± 7.5 menjadi 679.3 ± 18.6 mg/dl setelah induksi streptozotosin 150 mg/kg ($p < 0.0001$). Profil kurva kenaikan kadar glukosa darah terhadap waktu menunjukkan adanya peningkatan secara bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit yang hanya mendapatkan dapar sitrat. Fenomena ini merupakan gambaran adanya kerusakan sel β -pankreas secara progresif.

Pengujian potensi vanadium sebagai penghambat fosforilasi pada tirosin fosfatase dilakukan pada mencit yang menderita *diabetes mellitus* dengan parameter kemampuan

untuk menurunkan kadar glukosa darah. Pada pemberian vanadil sulfat 1 dan 10 mg/kg sehari sekali selama 7 hari tidak memberikan kemaknaan pada penurunan glukosa darah mencit yang menderita diabetes mellitus ($F_{(1,10)}=0.34$; $p=0.57$; untuk 1 mg/kg dan $F_{(1,11)}=3.65$; $p=0.08$ untuk 10 mg/kg vanadil sulfat dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapatkan streptozotosin saja). Peningkatan dosis 50 dan 100 mg/kg memberikan penurunan glukosa darah yang signifikan mulai pada hari ke 5 setelah pemberian vanadil sulfat ($F_{(1,11)}=18.53$; $p=0.0012$ untuk 50 mg/kg dan $F_{(1,12)}=32.18$; $p=0.001$ untuk 100 mg/kg vanadil sulfat dibandingkan pada kelompok yang mendapatkan streptozotosin saja). Pada hari ke 7, kadar glukosa darah diturunkan secara bermakna dari 298.7 ± 23.6 mg/dl menjadi 255.7 ± 20.7 mg/dl pada pemberian vanadil sulfat 10 mg/kg ($p<0.01$), 190.7 ± 35.7 mg/dl pada pemberian vanadil sulfat 50 mg/kg ($p<0.0001$), dan pada pemberian vanadil sulfat 100 mg/kg 160.1 ± 39.5 mg/dl ($p<0.0001$). Ini menunjukkan bahwa dengan pemberian vanadil sulfat akan memperbaiki sensitifitas reseptor insulin untuk memberikan signal pada GLUT 4 dalam memasukkan glukosa dari sistem peredaran darah ke sel otot dan hati.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa streptozotosin dapat menginduksi terjadinya *diabetes mellitus* pada mencit galur ICR yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah. Peningkatan ini dapat dihambat secara efektif dengan pemberian vanadil sulfat dengan cara meningkatkan sensitivitas reseptor insulin.

Kata kunci = antidiabetik ; vanadil sulfat ;
diabetes mellitus

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat, taufik dan hidayahnya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan. Pada kesempatan ini kami sampaikan terima kasih kepada :

- . Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Unair yang telah menyediakan dana DIPA PNBPN UNAIR 2005 untuk melaksanakan penelitian dengan baik.
- . Dekan Fakultas Farmasi Unair dan Kepala Bagian Ilmu Biomedik Farmasi Fakultas Farmasi Unair yang telah memberikan segala fasilitas dan dukungan selama penelitian berlangsung.
- . Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat atas segala kebaikan dan bantuan yang diberikan. Kami berharap semoga penelitian ini memberikan informasi yang bermanfaat bagi kemanusiaan.

Surabaya, Oktober 2005
Penyusun

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR/ILUSTRASI	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. <i>Diabetes Mellitus</i>	4
2.2. Desensitisasi Insulin Reseptor.....	5
2.3. Toleransi Glukosa.....	6
2.4. Managemen Terapi <i>Diabetes Mellitus</i>	6
2.5. Kemajuan Terapi <i>Diabetes Mellitus</i>	7
2.6. Vanadil sulfat	8
BAB III METODE PENELITIAN	9
3.1 Bahan.....	9
3.2 Alat.....	9
3.3 Metode Penelitian.....	9
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	11
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	16
DAFTAR PUSTAKA	17

DAFTAR TABEL

Table 1. Prevalensi terjadinya diabetes mellitus pada mencit galur ICR Setelah adanya induksi tunggal dengan streptozotosin secara peritoneal.....	11
--	----

DAFTAR GAMBAR / ILUSTRASI

Gambar 1. Diagram pengelompokan hewan coba dan perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok.....	10
Gambar 2. Kurva kenaikan kadar glukosa darah mencit setelah mendapatkan injeksi tunggal streptozotosin secara intraperitoneal.....	13
Gambar 3. Pengaruh pemberian vanadil sulfat pada kadar glukosa darah mencit yang menderita diabetes mellitus.....	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil pengukuran kadar gula darah setelah injeksi peritoneal streptozotosin 50-100 mg/kg.....	20
Lampiran 2. Hasil pengukuran kadar gula darah setelah injeksi peritoneal streptozotosin 100 mg/kg setelah diberikan vanadil sulfat secara subkutan.....	24

B A B I P E N D A H U L U A N

1.1 Latar Belakang

Diabetes adalah suatu kelainan metabolik yang bersifat kronik dimana terjadinya peningkatan kadar gula dalam darah. Di negara-negara maju seperti Amerika Serikat tingkat prevalensi lebih dari 7 % atau sekitar 18.2 juta penduduk. Jumlah ini diprediksi akan terus meningkat dari tahun ke tahun mengikuti gaya hidup, tingkat obesitas, lamanya harapan hidup dan polusi udara yang semakin tinggi. Sebagai akibatnya biaya pelayanan kesehatan yang menjadi tanggungan pemerintah menjadi sangat besar. Biaya ini akan semakin tinggi bila disertai komplikasi dengan penyakit yang lain (Anonim, 1996).

Dewasa ini penggunaan obat antidiabetik ditujukan untuk menambah jumlah insulin dalam darah dengan memberikan insulin dari luar pada penderita *diabetes mellitus* tipe 1 (*insulin dependent diabetes mellitus*), memacu pengeluaran insulin dari sel β -pankreas dan mengatur metabolisme karbohidrat pada sel otot atau jaringan adiposa untuk *diabetes mellitus* tipe 2 (*non insulin dependent diabetes mellitus*). Sehingga penderita diabetes harus menggunakan obat-obat tersebut dalam jangka lama atau selama hidupnya. Akibatnya akan timbul berbagai efek samping, terjadinya penurunan resistensi reseptor insulin, toleransi glukosa dan biaya yang sangat besar. Untuk itu diperlukan terobosan baru untuk mendapatkan metode penanganan *diabetes mellitus* yang lebih baik dan lebih spesifik. Laporan terbaru menunjukkan bahwa resistensi insulin terjadi karena adanya desensitisasi reseptor insulin sebagai akibat adanya autofosforilasi atau fosforilasi tirosin pada reseptor insulin. Untuk itu perlindungan tirosin dari fosforilasi atau fosfatasi mempunyai arti sangat penting dalam mencegah terjadinya resistensi (Anonim, 1996; Pugliese, 2004; Zimmet *et al*, 2000).

Seiring dengan perkembangan pengetahuan tingkat molekular dan keberhasilan kloning reseptor insulin, dilaporkan bahwa stimulasi reseptor insulin oleh insulin akan memicu serangkaian aktivasi protein seperti protein tirosin fosfatase, *insulin receptor substrate 1/2/3/4*, SHC, Grb, Cbl dan lain-lain. Selanjutnya protein tirosin fosfatase aktif akan membawa reseptor insulin dalam proses internalisasi dan down regulasi. Sementara protein yang lain akan mengaktifkan jalur signal transduksi, yang akhirnya memacu

pergerakan glukosa transporter (GLUT4) dari intraselular ke membran untuk mengangkut glukosa. Melihat rangkaian proses tersebut tentu peranan protein tirosin fosfatase sangat penting karena berkaitan dengan ketersediaan reseptor insulin di permukaan sel. Ditambahkan bahwa penelitian dengan menggunakan mencit yang sudah dihilangkan gen protein tirosin fosfatase menunjukkan bahwa reseptor insulin menjadi lebih sensitif dan glukosa transporter lebih aktif (Shimada *et al*, 1996; Sharma *et al*, 1999; Yu *et al*, 2000; Dai *et al*, 2003).

Berdasarkan data-data tersebut maka kami menduga bahwa perlindungan protein tirosin fosfatase pada reseptor insulin seperti pemakaian vanadil sulfat akan mempunyai arti yang sangat penting pada penderita diabetes dalam meningkatkan sensitisasi insulin reseptor, menghindari resistensi reseptor insulin dan toleransi glukosa yang selama ini menjadi masalah utama.

1.2 Rumusan Masalah

Pemakaian obat-obat antidiabetik jangka lama akan menyebabkan terjadinya resistensi reseptor insulin dan toleransi pemasukan glukosa ke dalam sel otot dan hati. Untuk itu pada penelitian ini akan diuji kemampuan vanadil sulfat dalam melindungi protein tirosin fosfatase pada reseptor insulin untuk mencegah terjadinya resistensi reseptor insulin dan toleransi pemasukan glukosa ke dalam sel otot dan hati sehingga akan terjadi penurunan glukosa darah pada mencit yang menderita *diabetes mellitus* tipe 2.

1.3 Tujuan Penelitian

Menguji efektivitas vanadil sulfat dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang menderita *diabetes mellitus* tipe 2.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan memberikan kemanfaatan sebagai berikut :

1.4.1 Mengetahui efektivitas vanadil sulfat dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang menderita *diabetes mellitus* tipe 2.

- 1.4.2 Didapatkan suatu metode yang efektif, efisiensi dan aman dalam menangani *diabetes mellitus tipe 2*.
- 1.4.3 Bukti dasar ini diharapkan akan menyumbangkan kemajuan dibidang farmasi dan kedokteran tentang obat-obat baru yang mempunyai potensi tinggi dan efek samping yang rendah pada *diabetes mellitus*, sehingga menjamin penggunaan obat-obat tepat sasaran, meningkatkan kecepatan proses penyembuhan dan penurunan tingkat kesakitan serta peningkatan kualitas hidup penderita.
- 1.4.4 Ketepatan dalam metode penanganan penderita *diabetes mellitus* akan dapat menurunkan biaya penggunaan obat, yang pada akhirnya akan berdampak pada peningkatan kesejahteraan masyarakat.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Diabetes Mellitus*

Diabetes mellitus adalah suatu kelainan metabolik yang bersifat kronik dimana terjadi peningkatan kadar gula dalam darah. Berdasarkan patofisiologi, kelainan metabolik ini dapat dibagi dalam 2 kelompok besar yaitu *diabetes mellitus* tipe 1 dan *diabetes mellitus* tipe 2. Pada tipe 1 peningkatan kadar gula didalam darah disebabkan karena ketidakmampuan sel β -pancreas untuk menghasilkan insulin atau jumlah sekresinya menurun sehingga diperlukan adanya tambahan insulin dari luar untuk memasukkan glukosa dari darah menuju sel atau jaringan. Tipe ini disebut juga *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM). Ketidak mampuan tubuh menghasilkan insulin ini merupakan reaksi autoimun yang terjadi secara genetic (Anonim, 2004; Devendra *et al*, 2004; Pugliese, 2004).

Kelompok lain adalah *diabetes mellitus* tipe 2 atau dikenal *non insulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM) yaitu produksi insulin cukup tetapi memasukkan glukosa dari darah ke dalam sel atau jaringan mengalami masalah. Hampir 90% penderita diabetes adalah penderita diabetes tipe 2. Patogenesis *diabetes mellitus* tipe 2 sangat kompleks dan masih belum jelas sampai saat ini. Ada dugaan karena desensitisasi pada reseptor insulin atau terjadinya toleransi pada pemasukan glukosa ke dalam se otot dan hati. Pada tahun 2002 Jerrol *et al* melaporkan bahwa pada penderita diabetes tipe 2 mengalami ketidak normalan ikatan antara insulin dengan reseptornya pada jaringan otot polos dan jaringan lemak (Atkinson and Eisenbarth, 2001; Anonim, 2004).

Dinegara maju seperti Amerika Serikat tingkat prevalensi *diabetes mellitus* mencapai 7 % atau sekitar 18.2 juta penduduk. Jumlah ini diprediksi akan terus meningkat dari tahun ke tahun mengikuti gaya hidup, tngkat obesitas, usia harapan hidup dan polusi udara yang semakin tinggi. Biaya pelayanan kesehatan yang menjadi tanggungan pemerintah atau asuransi kesehatan menjadi sangat tinggi. Biaya pelayanan kesehatan untuk penderita *diabetes mellitus* rata-rata lebih tinggi 2.699 US dolar tiap

penderita dibandingkan dengan orang sehat. Biaya ini akan semakin tinggi bila disertai komplikasi dengan penyakit yang lain (Devendra *et al*, 2004).

2.2. Desensitisasi Reseptor Insulin

Kemampuan reseptor insulin untuk mengikat insulin memberikan arti yang sangat penting untuk menjaga homeostasis glukosa dan mengatur metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Pugliese, 2004). Reseptor insulin merupakan protein membran heterotetrametrik yang terdiri dari 2 subunit alfa yang terletak diluar membran dan 2 subunit beta yang menembus membran. Pengikatan insulin terjadi pada subunit alfa dari reseptor insulin, yang selanjutnya akan menyebabkan terjadinya fosforilasi pada domain tirosin kinase yang terletak pada subunit beta. Domain kinase akan mengalami perubahan konformasi untuk mengaktifkan serangkaian protein antara seperti protein substrat untuk reseptor insulin (IRS 1/2/3/4), SHC, Gab-1, Cbl, APS dan P60dok. Kejadian ini akan mengaktivasi molekul yang terlibat dalam aliran signal PI3 (phosphotidil inositol-3-hidroksi) kinase. Selanjutnya menstimulasi glukosa transporter untuk memasukkan glukosa kedalam sel otot dan sel hati. Studi lebih lanjut menunjukkan bahwa reseptor ini dapat mengalami autofosforilasi oleh intraselular substrat untuk melanjutkan pesan yang disampaikan oleh insulin (Eisenbarth, 1986; Yu *et al*, 1999; Atkinson and Eisenbarth, 2001; Anonim, 2004). Pada keadaan dimana kadar glukosa dalam darah tinggi dalam waktu yang lama maka akan menyebabkan aktivasi reseptor insulin secara terus menerus yang akan menimbulkan terjadinya desensitisasi pada reseptor tersebut atau bahkan lebih jauh menyebabkan terjadinya down-regulation dari reseptor insulin. Akibatnya akan terjadi penurunan fungsi dari reseptor insulin. Pentingnya keberadaan reseptor insulin juga telah dipelajari dengan menggunakan *knockout* mencit, dimana mencit yang dihilangkan reseptor insulinnya melalui pengerusakan gen akan mengalami kematian pada minggu pertama setelah kelahiran akibat ketoasidosis (Janzon *et al*, 1981; Lorenzen *et al*, 1994; Wong and Wen, 2003). Juga perubahan reseptor insulin pada jaringan tertentu melalui manipulasi genetika akan menghasilkan variasi tingkat resistensi insulin dan tingkat diabetes pada mencit (Andre *et al*, 1996; Shimada *et al*, 1996; Yu *et al*, 2000).

2.3. Toleransi Glukosa

Sekresi insulin diatur dengan ketat untuk mendapatkan kadar glukosa dalam darah stabil baik sesudah makan maupun dalam keadaan puasa. Faktor yang terutama berperan dalam pengaturan ini adalah bermacam nutrien, hormon saluran cerna, hormon pankreas dan neurotransmitter otonom. Insulin akan memacu pengambilan glukosa oleh jaringan otot dan jaringan lemak melalui stimulasi glukosa transporter 4 (GLUT4). Stimulasi reseptor insulin akan menyebabkan reaksi pada serangkaian protein untuk mengaktifkan jalur PI3 kinase yang akan memacu pergerakan GLUT4 dari intraselular ke permukaan membran untuk mengangkut glukosa dari pembuluh darah ke dalam sel. Pada penderita diabetes, dimana kadar glukosa dalam darah tinggi terjadi translokasi GLUT4 secara terus menerus. Akibatnya GLUT4 dapat mengalami desensitisasi yang berakibat pada penurunan fungsi GLUT4. Ini yang diduga mendasari terjadi toleransi glukosa.

Pentingnya keberadaan GLUT4 dalam homeostasis glukosa juga diteliti secara ekstensif pada beberapa tahun terakhir. Mencit yang dihilangkan sebagian gen GLUT4 (*heterozygote knockout*) hanya mengalami toleransi glukosa yang ringan sampai sedang. Sedangkan penghilangan seluruh gen GLUT4 (*homozygote knockout*) menunjukkan hiperglikemia, kelainan pada jantung dan jaringan lemak serta usia hidup yang pendek (Andre *et al*, 1996). Penghilangan gen GLUT4 secara spesifik pada sel otot akan menghasilkan resistensi insulin dan toleransi glukosa (Shimada *et al*, 1996).

2.4. Manajemen Terapi *Diabetes Mellitus*

Dalam terapi *diabetes mellitus* penggunaan insulin merupakan terapi pilihan utama terutama dalam keadaan ketoasidosis. Setelah mengalami glukosa darah mengalami penurunan, penggunaan insulin dapat digantikan obat antidiabetik oral. Antidiabetik oral dapat dibagi dalam 2 golongan yaitu (1) derivat sulfonilurea dan (2) derivat biguanid. Cara kerja kedua golongan obat ini sangat berbeda. Derivat sulfonilurea seperti asetoheksamid, tolazamid, klorpropamid, glipizid, glibenklamid bekerja dengan merangsang sekresi insulin di pankreas. Sifat perangsangan sekresi insulin ini sangat berbeda dengan perangsangan oleh glukosa, karena ternyata pada saat hiperglikemia gagal merangsang sekresi insulin dalam jumlah yang mencukupi. Oleh sebab itu obat-obat golongan ini sangat bermanfaat pada penderita diabetes dewasa yang pankreasnya

masih mampu memproduksi insulin. Pada penderita dengan kerusakan sel β -pankreas pemberian obat derivat sulfonilurea tidak memberikan manfaat. Pada dosis tinggi, sulfonil urea menghambat penghancuran insulin oleh hati.

Derivat biguanid seperti metformin mempunyai mekanisme aksi dengan merangsang glikolisis anaerob yang berakibat masuknya glukosa ke dalam sel otot. Pemberian derivat biguanid pada orang normal tidak menurunkan kadar glukosa darah, tetapi menunjukkan potensiasi bila dikombinasi dengan insulin. Pemberian derivat biguanid tidak menimbulkan perubahan ILA (*insulin-like activity*) di dalam plasma dan secara morfologis sel pulau langerhans juga tidak mengalami perubahan. Biguanid juga tidak merangsang atau menghambat perubahan glukosa menjadi lemak.

Sebenarnya penggunaan obat antidiabetik hanya merupakan pelengkap diet. Penurunan berat badan merupakan tindakan yang sangat penting dalam pengendalian diabetes. Usaha penurunan berat badan harus dilakukan secara intensif terlepas dari obat apa yang akan diberikan. Penggunaan obat-obat antidiabetik dalam jangka lama akan memberikan resiko yang tidak kecil seperti dilaporkan oleh *University Group Diabetes Program* di Amerika Serikat pada tahun 1970 bahwa kombinasi diet dengan obat-obat anti diabetik oral tidak lebih efektif dibanding dengan diet saja dalam memperpanjang umur penderita *diabetes mellitus*. Juga kematian akibat gangguan kardiovaskuler pada penderita *diabetes mellitus* meningkat bila diet dikombinasi dengan obat antidiabetik oral. Penggunaan obat yang hanya merangsang pengeluaran insulin dari sel β -pankreas, meningkatkan penggunaan glukosa atau menurunkan glukoneogenesis hanya memberikan efek yang bersifat sementara serta penggunaan jangka lama akan mengakibatkan terjadinya toleransi. Sehingga diperlukan terobosan baru untuk mendapatkan obat yang bekerja dengan mengaktivasi transporter untuk pemasukan glukosa ke dalam sel otot (Zimmet *et al*, 1999).

2.5. Kemajuan Terapi *Diabetes Mellitus*

Setelah dilakukan kloning reseptor insulin maka pengetahuan mengenai jalur penghantaran signal telah berkembang pesat. Demikian juga dengan protein tertentu yang dapat mengaktivasi ataupun menghambat kerja reseptor insulin dapat diduga. Terapi diabetes yang semula hanya ditekankan pada perangsangan sekresi insulin dan

pengaturan: metabolisme karbohidrat, protein dan lemak bergeser pada pengaktifan molekul kecil yang dapat menggerakkan glukosa transporter untuk mengangkut glukosa ke dalam sel otot atau jaringan lemak. Ini akan memberikan banyak keuntungan karena bekerja pada protein spesifik sehingga efek samping yang ditimbulkan sangat kecil dan penggunaan jangka lama tidak menimbulkan resistensi reseptor insulin dan toleransi pemasukan glukosa. Salah satu protein kecil tersebut adalah protein tirosin fosfatase. Perlindungan pada protein tersebut dari proses fosfatasi atau fosforilasi akan meningkatkan sensitifitas reseptor insulin untuk mengaktifkan jalur pengangkutan glukosa oleh GLUT4 ke dalam sel otot dan jaringan adiposa dan juga menghambat terjadinya toleransi glukosa (Zhang, 2002).

2.6. Vanadil sulfat

Vanadil sulfat (VOSO_4) merupakan garam yang mengandung logam vanadium dengan valensi +4. Vanadium mempunyai peran penting dalam aktivitas enzim. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa vanadium mampu menghambat fosfatasi pada gugus tirosin dari reseptor insulin. Akibatnya gugus tersebut akan terlindungi dan mencegah terjadinya toleransi insulin.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

- Streptozotosin (sigma, pro analisis)
- Vanadyl sulfat (sigma, pro analisis)
- Buffer sitrat (asam sitrat dan natrium sitrat, sigma, pro analisis)
- Aquades

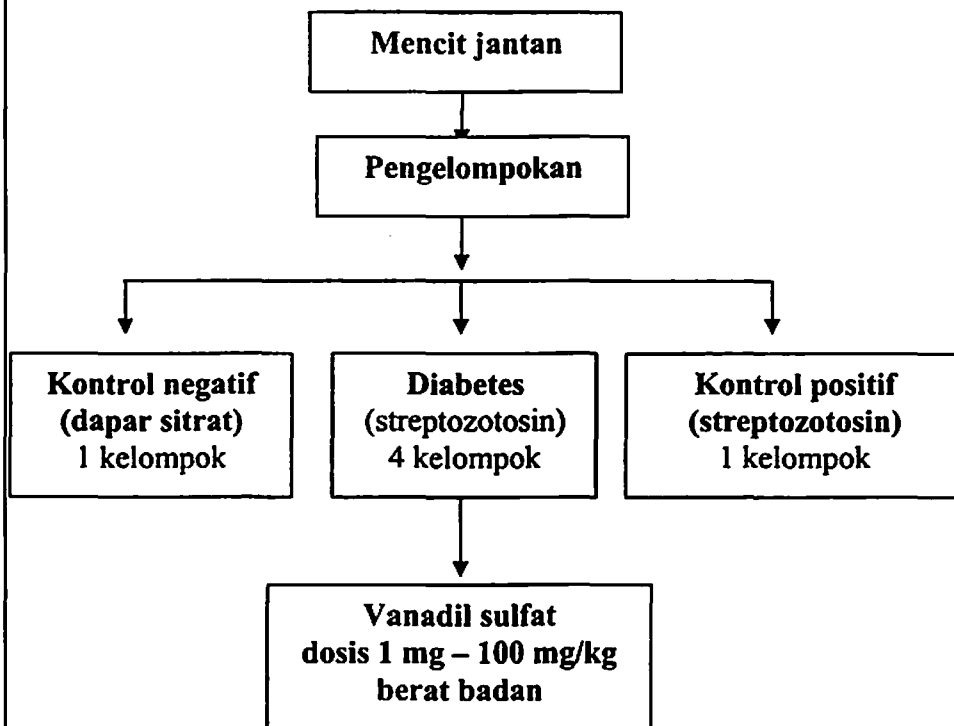
3.2 Alat

- *On call blood glucose monitoring system*
- Gunting bedah
- Mesh
- Jarum suntik 26 G
- Pipet tip 100 μ L
- *Socorec Micropippet*
- Kandang mencit

3.3 Metode Penelitian

3.3.1. Membuat model *diabetes mellitus* pada mencit

Mencit jantan galur ICR berumur 10 minggu ditempatkan secara berkelompok (10 ekor tiap kelompok) dalam kandang dengan temperatur ruangan $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap (siklus terang dimulai 6:00 am sampai 18:00 pm). Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman dijaga dalam jumlah yang cukup. Setelah 1 minggu adaptasi, mencit diberikan injeksi tunggal streptozotosin 100 mg/kg dalam pembawa dapar sitrat secara intraperitoneal untuk menginduksi *diabetes mellitus*. Kadar glukosa darah dievaluasi secara periodik mulai hari ke 0, 1, 3, 5, 7 dan 14 setelah injeksi streptozotosin. Pengelompokan hewan coba dan perlakuan secara lengkap dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Diagram pengelompokan hewan coba dan perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok.

3.3.2. Pengujian *diabetes mellitus* pada mencit

Sampel darah diambil melalui ekor dan glukosa darah diukur dengan glukometer “on call blood glucose monitoring system”.

3.3.3. Pengujian efektivitas vanadil sulfat dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Sehari setelah mencit mendapat injeksi tunggal streptozotosin 100 mg/kg secara intraperitoneal, larutan vanadil sulfat diberikan secara subkutan dengan dosis 1, 10, 50 dan 100 mg/kg sekali sehari selama 7 hari. Penurunan glukosa darah diukur pada hari ke 0, 1, 3, 5, 7, dan 14 setelah injeksi vanadil sulfat.

3.3.4. Analisis statistik

Efektivitas penurunan glukosa darah oleh vanadil sulfat tiap-tiap dosis pada hari 1 sampai 14 dibandingkan dengan kontrol negatif dan positif diuji dengan anova. Jika ada perbedaan yang bermakna dilanjutkan uji Bonferroni/Dunn.

B A B IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Terapi *diabetes mellitus* sampai saat ini belum memberikan hasil yang memuaskan baik pada tingkat perbaikan maupun kesembuhan. Perkembangan pengobatan yang dilakukan terhadap *diabetes mellitus* adalah mengganti insulin dari luar, mengganti kerusakan sel β -pankreas melalui transplantasi islet atau pankreas, pengembangan *human cell line* yang dapat menghasilkan, memproses, menyimpan dan melepaskan insulin, injeksi intra-pankreatik langsung dengan *adenoviral vector* yang mengandung gen penghasil insulin, serta induksi deferensiasi endokrin dari *stem cell* atau *beta cell precursor* (Challet *et al*, 1999; Dai *et al*, 2003).

Pada penelitian ini streptozotosin sangat efektif untuk menginduksi terjadinya *diabetes mellitus* yang tergantung pada dosis. Streptozotocin merupakan toksin sel β -pankreas yang bersifat spesifik, sehingga pemaparan dalam dosis tertentu akan menimbulkan kerusakan sel-sel tersebut yang berakibat adanya penurunan sekresi insulin (Challet *et al*, 1999; Sharma *et al*, 1999; Dai *et al* 2003; Tam *et al*, 2004). Hal ini akan mengakibatkan adanya peningkatan kadar glukosa dalam darah. Prevalensi terjadinya *diabetes mellitus* akibat pemberian streptozotosin selengkapnya dapat diamati pada tabel

1.

Table 1. Prevalensi terjadinya *diabetes mellitus* pada mencit galur ICR setelah adanya induksi tunggal dengan streptozotosin secara peritoneal.

Perlakuan	Angka <i>Diabetes Mellitus</i> (%)	Angka Kematian Mencit (%)
Dapar sitrat	0 (0/10) [#]	0 (0/10)
Streptozotosin 50 mg/kg	60 (6/10)	0 (0/10)
Streptozotosin 100 mg/kg	90 (9/10)	0 (0/10)
Streptozotosin 150 mg/kg	100 (10/10)	30 (3/10)

Keterangan : (/)[#] menunjukkan jumlah mencit yang menderita *diabetes mellitus*/jumlah mencit dalam tiap kelompok perlakuan.

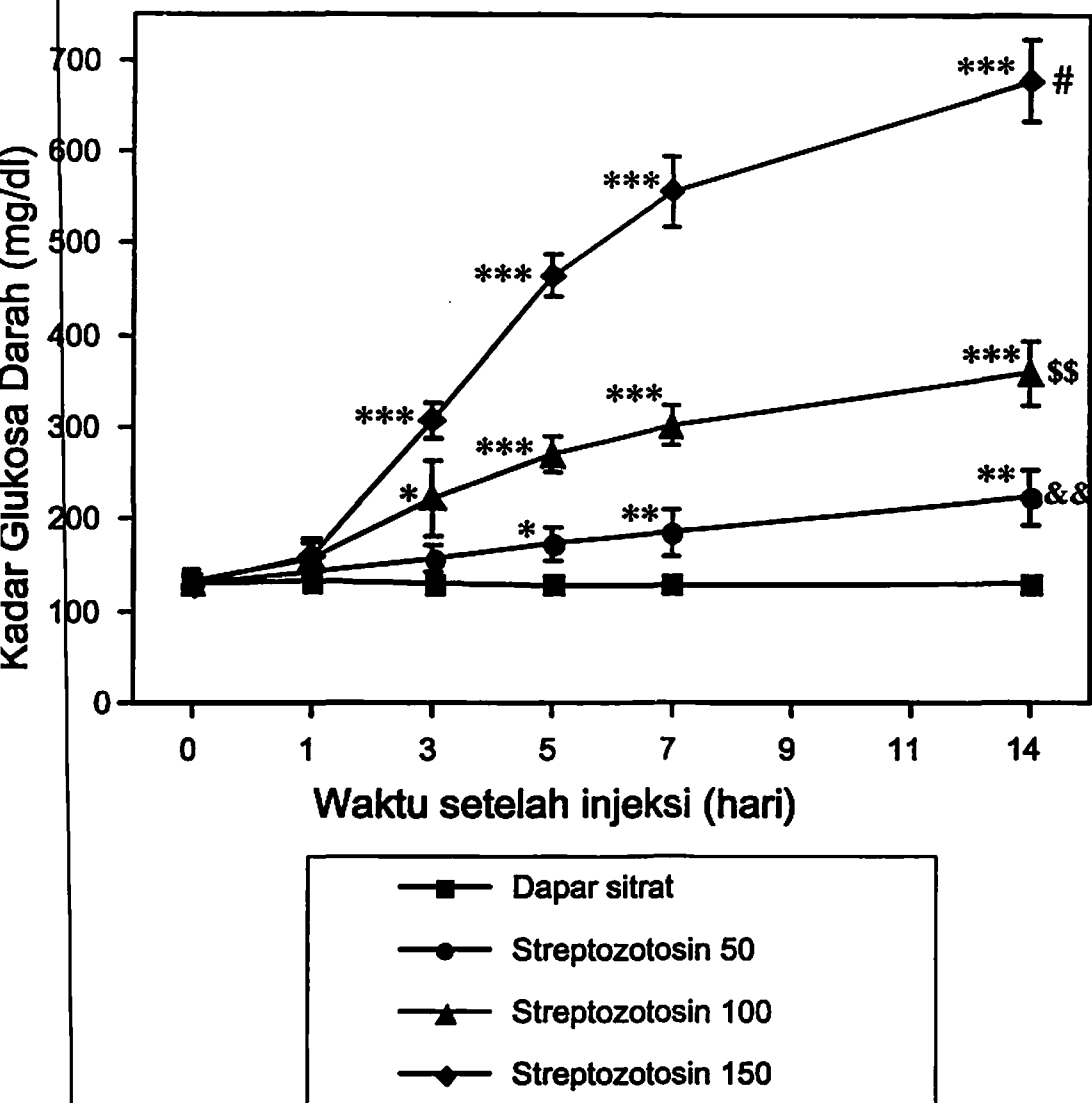
Pada pemberian streptozotosin dosis rendah (50 mg/kg) dapat menginduksi terjadi *diabetes mellitus* sebesar 60 % dari populasi mencit. Sementara dengan peningkatan dosis streptozotosin akan meningkatkan prevalensi terjadinya *diabetes mellitus*. Berdasarkan data penelitian ini dosis yang paling optimal untuk menghasilkan *diabetes mellitus* tanpa menimbulkan kematian pada mencit adalah 100 mg/kg.

Kadar gula darah pada mencit mengalami peningkatan yang tergantung pada dosis dan lamanya injeksi streptozotosin seperti terlihat pada gambar 2.

Pada induksi streptozotosin 50 mg/kg menunjukkan peningkatan kadar gula darah secara bermakna dari 130.1 ± 6.3 menjadi 185.6 ± 25.4 mg/dl pada hari ke 7 setelah injeksi ($p < 0.001$). Sementara pemberian streptozotosin 100 mg/kg meningkatkan kadar gula darah secara bermakna dari 132.9 ± 11.1 menjadi 302.6 ± 20.8 mg/dl ($p < 0.0001$). Peningkatan kadar gula darah juga naik secara drastis dari 130.5 ± 7.5 menjadi 679.3 ± 8.6 mg/dl setelah induksi streptozotosin 150 mg/kg ($p < 0.0001$). Profil kurva kenaikan kadar glukosa darah terhadap waktu menunjukkan adanya peningkatan secara bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit yang hanya mendapatkan dapar sitrat. Fenomena ini merupakan gambaran adanya kerusakan sel β -pankreas secara progresif.

Kemampuan reseptor insulin untuk mengikat insulin memberikan arti yang sangat penting untuk menjaga homeostasis glukosa dan mengatur metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Pugliese, 2004). Ikatan insulin dengan reseptornya akan memberikan sinyal tidak 2 respon yaitu pengikatan insulin terjadi pada subunit alfa dari reseptor insulin akan menyebabkan terjadinya fosforilasi pada domain tirosin kinase yang terletak pada subunit beta. Domain kinase akan mengalami perubahan konformasi untuk mengaktifkan serangkaian protein untuk memberikan signal pada GLUT 4 untuk membawa glukosa dari sistemik ke dalam sel otot dan hati. Selanjutnya menstimulasi glukosa transporter untuk memasukkan glukosa kedalam sel otot dan sel hati. Respon yang lain adalah ikatan insulin dengan reseptornya akan mengaktifkan tirosin fosfatase untuk mengalami desensitisasi reseptor dan selanjutnya diikuti proses internalisasi. Proses ini dihambat oleh adanya logam berat tertentu seperti vanadium (Challet *et al*, 1999; Sharma *et al*, 1999; Cusi *et al*, 2001; Dai *et al* 2003; Tam *et al*, 2004).

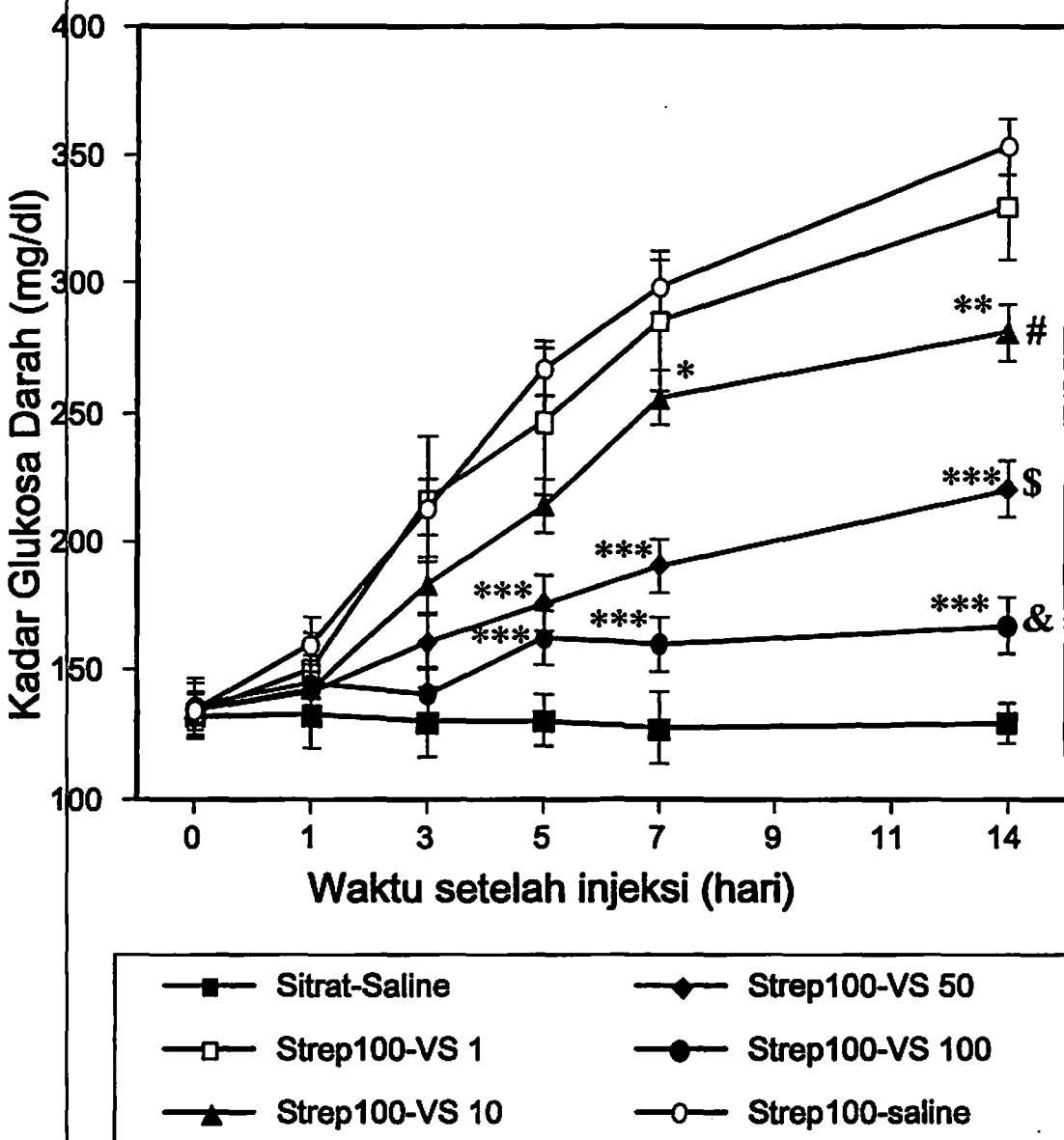




gambar 2. Kurva kenaikan kadar glukosa darah mencit setelah mendapatkan injeksi tunggal streptozotosin secara intraperitoneal. Tanda * menunjukkan $p < 0.05$; ** menunjukkan $p < 0.001$ dan *** menunjukkan $p < 0.0001$ dibandingkan dengan hari ke 0 untuk masing-masing kelompok. Tanda && menunjukkan ($F_{(1,13)} = 22.50$; $p < 0.01$); $^{\$}$ menunjukkan ($F_{(1,14)} = 69.89$; $p < 0.0001$) dan # menunjukkan ($F_{(1,14)} = 203.27$; $p < 0.0001$) dibandingkan pada kelompok yang hanya mendapat dapar sitrat.

Pengujian potensi vanadium sebagai penghambat fosforilasi pada tirosin fosfatase dilakukan pada mencit yang menderita *diabetes mellitus* dengan parameter kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah. Pada penelitian ini digunakan vanadil sulfat dengan kadar antara 1 - 100 mg/kg yang diberikan secara subkutan. Efektivitas

penurunan kadar glukosa darah oleh pemberian beberapa konsentrasi vanadil sulfat dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh pemberian vanadil sulfat pada kadar glukosa darah mencit yang menderita diabetes mellitus. Tanda * menunjukkan $p < 0.05$; ** menunjukkan $p < 0.001$ dan *** menunjukkan $p < 0.0001$ dibandingkan dengan kontrol positif pada hari yang sama. Tanda # menunjukkan ($F_{(1,11)}=3.65$; $p=0.08$); § menunjukkan ($F_{(1,11)}=18.53$; $p=0.0012$) dan & menunjukkan ($F_{(1,12)}=32.18$; $p=0.001$) dibandingkan pada kelompok yang mendapatkan strep100-saline.

Pada pemberian vanadil sulfat 1 dan 10 mg/kg sehari sekali selama 7 hari tidak memberikan kemaknaan pada penurunan glukosa darah mencit yang menderita diabetes mellitus ($F_{(1,10)}=0.34$; $p=0.57$; untuk 1 mg/kg dan $F_{(1,11)}=3.65$; $p=0.08$ untuk 10 mg/kg vanadil sulfat dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapatkan streptozotisin saja). Peningkatan dosis 50 dan 100 mg/kg memberikan penurunan glukosa darah yang signifikan mulai pada hari ke 5 setelah pemberian vanadil sulfat ($F_{(1,11)}=18.53$; $p=0.0012$ untuk 50 mg/kg dan $F_{(1,12)}=32.18$; $p=0.001$ untuk 100 mg/kg vanadil sulfat dibandingkan pada kelompok yang mendapatkan streptozotisin saja). Pada hari ke 7, kadar glukosa darah diturunkan secara bermakna dari 298.7 ± 23.6 mg/dl menjadi 255.7 ± 20.7 mg/dl pada pemberian vanadil sulfat 10 mg/kg ($p<0.01$), 190.7 ± 35.7 mg/dl pada pemberian vanadil sulfat 50 mg/kg ($p<0.0001$), dan pada pemberian vanadil sulfat 100 mg/kg 160.1 ± 39.5 mg/dl ($p<0.0001$). Ini menunjukkan bahwa dengan pemberian vanadil sulfat akan memperbaiki sensitifitas reseptor insulin untuk memberikan signal pada GLUT 4 dalam memasukkan glukosa dari sistem peredaran darah ke sel otot dan hati.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa streptozotosin dapat menginduksi terjadinya *diabetes mellitus* pada mencit galur ICR yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah. Peningkatan ini dapat dihambat secara efektif dengan pemberian vanadil sulfat dengan cara meningkatkan sensitivitas reseptor insulin.

Untuk mengetahui mekanisme yang mendasari peningkatan sensitivitas reseptor insulin, maka diperlukan penelitian lanjutan yang mengarah pada penetapan kadar insulin plasma, penentuan secara kualitatif maupun kuantitatif protein atau peptida yang terlibat pada proses sensitisasi reseptor insulin dan penetapan kadar protein-protein yang terlibat dalam penghantaran signal dari reseptor insulin.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Andre I, Gonzales A, Wang B, Katz J, benoist C, Mathis D (1996) Check points in the progression of autoimmune disease: lesions from diabetes models, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 93:2260-2263.
- Anonim (1986) American diabetes association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diab. Care** 27 (suppl. 1): S5-10.
- Atkinson MA, Eisenbarth GS (2001) Type 1 diabetes: New perspectives on disease pathogenesis and treatment, **Lancet** 358: 221-229.
- Challet E, Reeth OV, Turek FW (1999) Altered circadian responses to light streptozotocin-induced diabetic mice, **AJP-Endo and Metab.** 277: 232-237
- Cusi K, Cukier S, DeFronso RA, Torres M, Puchulu M, Redondo JCP (2001) Vanadyl sulfate improves hepatic and muscle insulin sensitivity in type 2 diabetes, **J Clin. Endocrinol. Metab.** 86: 1410-1417
- Dai C, Li Y, Yang J, Liu Y (2003) Hepatocyte growth factor preserves beta cell mass and mitigates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. **J. Biol. Chem** 278: 27080-27087
- Devendra D, Liu E, Eisenbarth GS (2004) Type 1 diabetes: recent development, **Brit. Med. J.** 328: 750-754.
- Eisenbarth GS (1986) Type 1 diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease, **N. Engl. J. Med.** 314: 1360-1368.

anzon L, Bergentz SE, Ericsson BF, Lindell SE (1981) The arm-ankle pressure gradient in relation to cardiovascular risk factors in intermittent claudication, **Circulation** 63: 1339-1341.

Lorenzen T, Pociot F, Hougaard P, Nerup J, (1994) Long-term risk of IDDM in first-degree relatives of patients with IDDM, **Diabetol** 37: 321-327.

Pugliese A (2004) Genetics of type 1 diabetes, **Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.** 33: 1-16.

Sharma K, Wang L, Zhu Y, DeGuzman A, Cao G-Y, Lynn RB, Joseph SK (1999) Renal type I inositol 1,4,5-triphosphate receptor is reduced in streptozotocin-induced diabetic rats and mice, **AJP-Renal Phys.** 276: 54-61.

Shimada A, Charlton B, Taylor-Edwards C, Fathman CG (1996) β -cell destruction may be a late consequence of the autoimmune process in nonobese diabetic mice, **Diabetes** 45: 1063-1067.

Tam J, Rosenberg L, Maysinger D (2004) INGAP peptide improves nerve function and enhances regeneration in streptozotocin-induced diabetic C57BL/6 mice. **FASEB J.** 18: 767-9.

Wong FS, Wen L (2003) The study of HLA class II and autoimmune diabetes, **Curr. Mol. Med.** 3: 1-15.

Zhu L, Brewer KW, Gates S, Wang T, Babu S, Gottlieb PA (1999) DRB1-04 and DQ alleles: Expression of 21-hydroxylase autoantibodies and risk of progression to Addison's disease, **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 84: 328-335.

Yu L, Robles DT, Abiru N, Kaur P, Rewers M, Kelemen K et al, (2000) Early expression of antiinsulin autoantibodies of humans and the NOD mouse: Evidence for early determination of subsequent diabetes, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 97: 1701-1706.

Zimmet P, Turner R, McCarty D, Rowley M, mackay I (1999) Crucial points at diagnosis – type 2 diabetes or slow type 1 diabetes. **Diab. care** 22: B59-64.

n 1.

il pengukuran kadar gula darah setelah injeksi peritoneal
 tozotosin 50-100 mg/kg

Perlakuan	Kadar Gula Darah					
	Day 0	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14
A	135.0	138.0	130.0	125.0	131.0	132.0
A	137.0	141.0	140.0	138.0	129.0	133.0
A	128.0	125.0	127.0	118.0	130.0	120.0
A	120.0	124.0	110.0	130.0	122.0	124.0
A	140.0	136.0	130.0	140.0	130.0	140.0
A	150.0	139.0	139.0	139.0	142.0	142.0
A	118.0	127.0	128.0	113.0	118.0	114.0
A	124.0	127.0	130.0	125.0	124.0	134.0
B	120.0	139.0	143.0	149.0	150.0	152.0
B	130.0	130.0	150.0	176.0	210.0	220.0
B	125.0	137.0	143.0	157.0	165.0	200.0
B	132.0	142.0	147.0	160.0	172.0	180.0
B	132.0	150.0	160.0	190.0	182.0	198.0
B	132.0	147.0	178.0	200.0	220.0	220.0
B	140.0	150.0	177.0	180.0	200.0	400.0
C	134.0	187.0	234.0	280.0	310.0	350.0
C	144.0	150.0	270.0	331.0	370.0	580.0
C	120.0	160.0	210.0	270.0	280.0	290.0
C	130.0	170.0	230.0	305.0	354.0	375.0
C	150.0	170.0	180.0	200.0	280.0	390.0
C	140.0	150.0	170.0	178.0	180.0	248.0
C	122.0	134.0	200.0	305.0	317.0	340.0
C	123.0	140.0	290.0	300.0	330.0	310.0

ngan: A:Dapar sitrat
 B:Streptozotosin 50 mg/kg
 C:Streptozotosin 100 mg/kg
 D: Streptozotosin 150 mg/kg

Hasil pengukuran kadar gula darah setelah injeksi peritoneal streptozotosin 50-100 mg/kg

No	Perlakuan	Kadar Gula Darah					
		Day 0	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14
	D	115.0	145.0	310.0	504.0	680.0	720.0
	D	130.0	160.0	270.0	447.0	500.0	740.0
	D	141.0	180.0	403.0	608.0	740.0	810.0
	D	135.0	141.0	305.0	444.0	560.0	600.0
	D	130.0	190.0	330.0	380.0	400.0	400.0
	D	128.0	153.0	335.0	459.0	510.0	770.0
	D	130.0	167.0	301.0	443.0	490.0	662.0

Keterangan: A:Dapar sitrat
 B:Streptozotosin 50 mg/kg
 C:Streptozotosin 100 mg/kg
 D: Streptozotosin 150 mg/kg

Rata-rata hasil pengamatan

	n	X	SD	SE
Control, day0	8	131.500	10.954	3.873
Control, day1	8	132.125	7.019	2.482
Control, day3	8	129.250	9.177	3.245
Control, day5	8	128.500	10.071	3.561
Control, day7	8	128.250	7.226	2.555
Control, day14	8	129.875	9.746	3.446
Strepto 50, day0	7	130.143	6.283	2.375
Strepto 50, day1	7	142.143	7.426	2.807
Strepto 50, day3	7	156.857	15.225	5.755
Strepto 50, day5	7	173.143	18.605	7.032
Strepto 50, day7	7	185.571	25.416	9.606
Strepto 50, day14	7	224.286	81.014	30.620
Strepto 100, day0	8	132.875	11.077	3.916
Strepto 100, day1	8	157.625	17.566	6.210
Strepto 100, day3	8	223.000	41.789	14.774
Strepto 100, day5	8	271.125	54.149	19.145
Strepto 100, day7	8	302.625	58.858	20.809
Strepto 100, day14	8	360.375	99.977	35.347
Strepto 150, day0	7	129.857	7.904	2.988
Strepto 150, day1	7	162.286	18.016	6.809
Strepto 150, day3	7	322.000	41.577	15.715
Strepto 150, day5	7	469.286	71.124	26.882
Strepto 150, day7	7	554.286	117.737	44.500
Strepto 150, day14	7	671.714	138.349	52.291

Hasil analisis statistik dengan menggunakan Anova

F P

3	1776357.528	592119.176	88.666	<.0001	265.999	1.000
27	180307.935	6678.072				
5	1113889.008	222777.802	116.996	<.0001	584.980	1.000
15	1133002.788	75533.519	39.668	<.0001	595.018	1.000
135	257060.137	1904.149				

名称未設定のコンパ外変数 #1

名称未設定のコンパ外変数 #1 * Gro

名称未設定のコンパ外変数 #1 * 対象o

Hasil analisis statistik dengan menggunakan Bunferroni/Dunn

	平均値の差	棄却値	p値	
Control, Strepto 50	-38.774	49.156	.0331	
Control, Strepto 100	-111.354	47.489	<.0001	S
Control, Strepto 150	-253.729	47.489	<.0001	S
Strepto 50, Strepto 100	-72.580	49.156	.0003	S
Strepto 50, Strepto 150	-214.955	49.156	<.0001	S
Strepto 100, Strepto 150	-142.375	47.489	<.0001	S

この表内の比較は、次のp値を基準として比較しています：
p値<.0083.

Hasil analisis statistik dengan menggunakan Bunferroni/Dunn

Bonferroni/Dunn : 名称未設定の ｺﾝﾊﾞ 外変数 #1
効果 : カテゴリー 名称未設定の ｺﾝﾊﾞ 外変数 #1
有意水準 : 5 %

	平均値の差	棄却値	p値	
day0, day1	-17.032	33.122	.1267	
day0, day3	-74.516	33.122	<.0001	S
day0, day5	-131.194	33.122	<.0001	S
day0, day7	-165.677	33.122	<.0001	S
day0, day14	-221.161	33.122	<.0001	S
day1, day3	-57.484	33.122	<.0001	S
day1, day5	-114.161	33.122	<.0001	S
day1, day7	-148.645	33.122	<.0001	S
day1, day14	-204.129	33.122	<.0001	S
day3, day5	-56.677	33.122	<.0001	S
day3, day7	-91.161	33.122	<.0001	S
day3, day14	-146.645	33.122	<.0001	S
day5, day7	-34.484	33.122	.0023	S
day5, day14	-89.968	33.122	<.0001	S
day7, day14	-55.484	33.122	<.0001	S

この表内の比較は、次のp値を基準として比較しています：
p値<.0033.

an 2.

asil pengukuran kadar gula darah setelah injeksi peritoneal streptozotosin 100 mg/kg setelah diberikan vanadil sulfat secara sub-an

No	Perlakuan	Kadar Gula Darah					
		Day 0	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14
	E	135.0	142.0	134.0	140.0	140.0	136.0
	E	141.0	135.0	138.0	130.0	125.0	131.0
	E	136.0	137.0	141.0	140.0	138.0	129.0
	E	132.0	128.0	125.0	127.0	118.0	130.0
	E	115.0	110.0	100.0	110.0	105.0	120.0
	E	125.0	140.0	136.0	130.0	140.0	130.0
	E	144.0	150.0	139.0	139.0	139.0	142.0
	E	130.0	118.0	127.0	128.0	113.0	118.0
	F	144.0	157.0	210.0	270.0	310.0	354.0
	F	131.0	150.0	270.0	301.0	374.0	380.0
	F	125.0	153.0	170.0	264.0	264.0	290.0
	F	132.0	169.0	309.0	305.0	331.0	376.0
	F	139.0	128.0	184.0	224.0	245.0	332.0
	F	132.0	144.0	157.0	118.0	189.0	248.0
	G	134.0	145.0	220.0	240.0	280.0	318.0
	G	144.0	140.0	151.0	204.0	227.0	270.0
	G	110.0	121.0	138.0	150.0	165.0	189.0
	G	130.0	141.0	170.0	204.0	278.0	288.0
	G	150.0	179.0	231.0	267.0	288.0	300.0
	G	140.0	131.0	189.0	220.0	296.0	320.0
	H	115.0	125.0	168.0	192.0	260.0	280.0
	H	140.0	161.0	171.0	170.0	170.0	197.0
	H	141.0	142.0	157.0	164.0	178.0	189.0

Angaran: E: Dapar sitrat- salin
 F: Streptozotosin 100 - Vamadil sulfat 1
 G: Streptozotosin 100 - Vamadil sulfat 10
 H: Streptozotosin 100 - Vamadil sulfat 50

sil pengukuran kadar gula darah setelah injeksi peritoneal streptozotosin 100 mg/kg setelah diberikan vanadil sulfat secara sub-an

o	Perlakuan	Kadar Gula Darah					
		Day 0	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14
	H	135.0	135.0	133.0	170.0	160.0	184.0
	H	130.0	129.0	146.0	177.0	186.0	196.0
	H	144.0	157.0	188.0	183.0	190.0	277.0
	I	132.0	147.0	150.0	193.0	205.0	207.0
	I	132.0	130.0	134.0	157.0	126.0	132.0
	I	140.0	154.0	150.0	204.0	225.0	220.0
	I	135.0	132.0	147.0	163.0	133.0	158.0
	I	132.0	140.0	122.0	117.0	127.0	139.0
	I	134.0	157.0	146.0	154.0	155.0	165.0
	I	147.0	156.0	137.0	149.0	150.0	150.0
	J	144.0	150.0	270.0	331.0	370.0	480.0
	J	120.0	160.0	210.0	270.0	280.0	290.0
	J	130.0	170.0	230.0	305.0	354.0	375.0
	J	150.0	170.0	180.0	200.0	280.0	390.0
	J	140.0	150.0	170.0	178.0	180.0	248.0
	J	122.0	134.0	200.0	305.0	317.0	340.0
	J	144.0	150.0	270.0	331.0	370.0	480.0

erangan: H: Streptozotosin 100 - Vamadil sulfat 50
 I : Streptozotosin 100 - Vamadil sulfat 100
 J : Streptozotosin 100 - salin

Rata-rata hasil pengamatan

	n	X	SD	SE
Salin-Salin, day0	8	132.250	9.192	3.250
Salin-Salin, day1	8	132.500	13.180	4.660
Salin-Salin, day3	8	130.000	13.374	4.728
Salin-Salin, day5	8	130.500	9.943	3.515
Salin-Salin, day7	8	127.250	13.977	4.942
Salin-Salin, day14	8	129.500	7.783	2.752
Strepto-VS1, day0	6	133.833	6.676	2.725
Strepto-VS1, day1	6	150.167	13.703	5.594
Strepto-VS1, day3	6	216.667	60.364	24.644
Strepto-VS1, day5	6	247.000	69.668	28.442
Strepto-VS1, day7	6	285.500	66.208	27.029
Strepto-VS1, day14	6	330.000	52.000	21.229
Strepto-VS10, day0	6	134.667	14.010	5.719
Strepto-VS10, day1	6	142.833	19.702	8.043
Strepto-VS10, day3	6	183.167	37.221	15.195
Strepto-VS10, day5	6	214.167	39.539	16.142
Strepto-VS10, day7	6	255.667	50.607	20.660
Strepto-VS10, day14	6	280.833	48.754	19.904
Strepto-VS50, day0	6	134.167	10.610	4.331
Strepto-VS50, day1	6	141.500	14.775	6.032
Strepto-VS50, day3	6	160.500	19.501	7.961
Strepto-VS50, day5	6	176.000	10.218	4.171
Strepto-VS50, day7	6	190.667	35.658	14.557
Strepto-VS50, day14	6	220.500	45.187	18.448
Strepto-VS100, day0	7	136.000	5.627	2.127
Strepto-VS100, day1	7	145.143	11.320	4.279
Strepto-VS100, day3	7	140.857	10.399	3.931
Strepto-VS100, day5	7	162.429	28.890	10.919
Strepto-VS100, day7	7	160.143	39.473	14.920
Strepto-VS100, day14	7	167.286	33.644	12.716
Strepto-Salin, day0	7	134.286	11.161	4.219
Strepto-Salin, day1	7	160.143	17.344	6.555
Strepto-Salin, day3	7	213.429	34.384	12.996
Strepto-Salin, day5	7	267.000	57.114	21.587
Strepto-Salin, day7	7	298.714	62.441	23.601
Strepto-Salin, day14	7	353.286	74.334	28.096

Hasil analisis statistik dengan menggunakan anova

F P

5	388109.648	77621.930	17.641	<.0001	88.205	1.000
34	149602.202	4400.065				
5	375396.938	75079.388	119.790	<.0001	598.952	1.000
25	219254.364	8770.175	13.993	<.0001	349.824	1.000
170	106548.536	626.756				

名称未設定の因子外変数 #1

名称未設定の因子外変数 #1 * Gro

名称未設定の因子外変数 #1 * 対象o

Hasil analisis statistik dengan menggunakan Bunferroni/Dunn

	平均値の差	棄却値	p値	
Salin-Salin, Strepto-VS1	-96.861	46.171	<.0001	S
Salin-Salin, Strepto-VS10	-71.556	46.171	<.0001	S
Salin-Salin, Strepto-VS50	-40.222	46.171	.0095	
Salin-Salin, Strepto-VS100	-21.643	44.246	.1318	
Salin-Salin, Strepto-Salin	-107.476	44.246	<.0001	S
Strepto-VS1, Strepto-VS10	25.306	49.359	.1148	
Strepto-VS1, Strepto-VS50	56.639	49.359	.0009	S
Strepto-VS1, Strepto-VS100	75.218	47.563	<.0001	S
Strepto-VS1, Strepto-Salin	-10.615	47.563	.4859	
Strepto-VS10, Strepto-VS50	31.333	49.359	.0531	
Strepto-VS10, Strepto-VS100	49.913	47.563	.0022	S
Strepto-VS10, Strepto-Salin	-35.921	47.563	.0228	
Strepto-VS50, Strepto-VS100	18.579	47.563	.2260	
Strepto-VS50, Strepto-Salin	-67.254	47.563	<.0001	S
Strepto-VS100, Strepto-Salin	-85.833	45.697	<.0001	S

この表内の比較は、次のp値を基準として比較しています：
p値<.0033.

Hasil analisis statistik dengan menggunakan Bunferroni/Dunn

	平均値の差	棄却値	p値	
day0, day1	-10.950	16.667	.0521	
day0, day3	-37.900	16.667	<.0001	S
day0, day5	-62.675	16.667	<.0001	S
day0, day7	-81.375	16.667	<.0001	S
day0, day14	-107.550	16.667	<.0001	S
day1, day3	-26.950	16.667	<.0001	S
day1, day5	-51.725	16.667	<.0001	S
day1, day7	-70.425	16.667	<.0001	S
day1, day14	-96.600	16.667	<.0001	S
day3, day5	-24.775	16.667	<.0001	S
day3, day7	-43.475	16.667	<.0001	S
day3, day14	-69.650	16.667	<.0001	S
day5, day7	-18.700	16.667	.0010	S
day5, day14	-44.875	16.667	<.0001	S
day7, day14	-26.175	16.667	<.0001	S

この表内の比較は、次のp値を基準として比較しています：
p値<.0033.

Handwritten text at the top of the page, likely a title or header, which is mostly illegible due to fading.

A faint grid or table structure, possibly a ledger or record book, with multiple rows and columns. The content within the grid is illegible due to fading.

