

Tko
02/12
Pur
P

TESIS

PENGARUH LATIHAN FISIK TERHADAP
POLA PERUBAHAN KADAR GLUKOSA DARAH AKIBAT
INJEKSI DEPO *MEDROXYPROGESTERONE ACETATE* (DMPA)
SECARA SERIAL



Bambang Purwanto

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA.
2007

TESIS

PENGARUH LATIHAN FISIK TERHADAP
POLA PERUBAHAN KADAR GLUKOSA DARAH AKIBAT
INJEKSI DEPO *MEDROXYPROGESTERONE ACETATE* (DMPA)
SECARA SERIAL

Bambang Purwanto

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007

**PENGARUH LATIHAN FISIK TERHADAP
POLA PERUBAHAN KADAR GLUKOSA DARAH AKIBAT
INJEKSI DEPO *MEDROXYPROGESTERONE ACETATE* (DMPA)
SECARA SERIAL**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :
Bambang Purwanto
090515602.M

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

3 Juli 2007

Lembar pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL, 3 Juli 2007

Oleh

Pembimbing Ketua



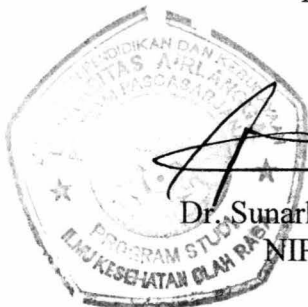
Dr. Harjanto JM, dr., AIF.
NIP. 130 368 675

Pembimbing



Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes.
NIP. 132 049 017

Mengetahui
KPS



Dr. Sunarko Setyawan, dr. MS
NIP. 131 949 832

Telah diuji pada

Tanggal, 3 Juli 2007

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Paulus Liben, dr., MS

Anggota : 1. Dr. Harjanto JM, dr., AIF
2. Dr. Sunarko Setyawan, dr., MS
3. Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes
4. Budiono, dr., M.Kes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah berkenan memberikan rahmat serta hidayahNya sehingga penelitian dan penulisan tesis ini dapat terselesaikan. Dengan selesainya tesis ini maka dengan ketulusan hati saya ingin menyampaikan terima kasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

Dr. Harjanto JM, dr., AIF selaku Pembimbing Ketua yang telah banyak memberikan dorongan, bimbingan dan arahan sehingga saya dapat menempuh program pendidikan magister ini dan akhirnya dapat menyelesaikan tesis. Semoga Allah SWT berkenan membalas dengan limpahan pahala dan kebaikan berlipat-lipat.

Dr. Anwar Ma'ruf, dr., M.Kes selaku Pembimbing atas saran, bimbingan dan dorongan semangat sehingga saya dapat fokus pada penelitian dan penyelesaian tesis.

Pemerintah Republik Indonesia melalui Direktorat Jendral pendidikan Tinggi yang telah memberikan kesempatan untuk memperoleh Beasiswa Unggulan untuk mengikuti Program Magister di Pascasarjana Unair

Dr. Sunarko Setyawan, dr., M.S selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga Pascasarjana Universitas Airlangga atas kesempatan dan segala dukungan baik moril maupun materiil selama proses pendidikan Magister IKOR. Semoga Allah SWT berkenan membalas dengan limpahan pahala dan kebaikan berlipat-lipat.

Dr. Paulus Liben, dr., MS atas simpati, dukungan moril dan saran yang telah meberikan banyak inspirasi dalam penelitian dan penyelesaian tesis.

Prof. Dr. Muhammad Amien, dr. SpP(K) selaku Direktur Pascasarjana Unair dan Dekan Fakultas Kedokteran Unair yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan Magister di Pascasarjana Unair.

Segenap dosen Program Studi S-2 Ilmu Kesehatan Olahraga Unair atas semua ilmu, bimbingan dan wawasan yang telah diberikan. Semoga dapat bermanfaat meningkatkan kualitas keilmuan kami.

Bapak dan Ibunda tercinta atas dorongan semangat dan finansial serta tunanganku tercinta, terima kasih tak terhingga atas dukungan dan inspirasi terutama di saat-saat sulit selama pendidikan.

Teman-temanku kuliah S-2 IKOR (Ugik, Dita dan Darwis) yang mewarnai hari-hari kuliah dengan penuh keceriaan, saling mendukung sehingga dapat menyelesaikan pendidikan bersama-sama. *"I love u guys"*

Tak lupa kerabat kerja Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia FK Unair dan Laboratorium Kesehatan Daerah Jawa Timur atas bantuan, saran dan kerjasama yang terjalin baik selama penelitian berlangsung.

RINGKASAN

Peningkatan prevalensi penderita diabetes pada wanita berkorelasi dengan peningkatan jumlah penderita gestational diabetes mellitus (GDM). Intoleransi glukosa semasa kehamilan merupakan salah satu faktor resiko yang perlu untuk dicegah. Latihan fisik dan diet direkomendasikan sebagai upaya pencegahan primer diabetes, namun latihan fisik sendiri memiliki efektifitas pencegahan yang lebih baik dari diet. Peranan latihan fisik dalam mencegah intoleransi glukosa semasa kehamilan belum diketahui secara jelas hingga saat ini.

GDM sering ditjumpai pada umur 32 minggu kehamilan, dimana konsentrasi progesteron mencapai puncak di dalam darah. Peranan progesteron dalam fisiologi intoleransi glukosa semasa kehamilan telah diketahui dari pengamatan terhadap tikus yang diinjeksi DMPA. Konsentrasi glukosa mengalami penurunan di awal paparan progesteron (6-11 hari) kemudian mengalami peningkatan setelah hari ke-18. Perubahan konsentrasi glukosa tersebut kemudian disebut sebagai titik balik yang dicoba untuk dicegah dengan pemberian latihan fisik.

Kadar glukosa darah puasa (GDP) diukur sebelum perlakuan dan pada hari ke-11,18 dan 25 injeksi DMPA. Kelompok kontrol (P1) terdiri dari 16 ekor tikus yang diinjeksi DMPA dan kelompok perlakuan (P2) terdiri dari 16 ekor tikus yang mendapatkan injeksi DMPA dan latihan fisik. Latihan fisik yang dilakukan berupa latihan renang tiga kali seminggu dengan intensitas 50% dari kapasitas renang maksimal. Perubahan GDP dianalisis secara time series dengan ANOVA dan perbedaan antara dua kelompok dianalisis dengan uji t bebas.

Kadar glukosa darah puasa (GDP) tikus kelompok kontrol (P1) pada hari ke-0, 11, 18 dan 25 adalah sebagai berikut $\{(101.50 \pm 5.52); (80.12 \pm 5.17); (62.81 \pm 6.44173); (89.25 \pm 13.82)\}$, sedangkan kadar (GDP) pada kelompok perlakuan (P2) adalah sebagai berikut $\{(102.62 \pm 5.66); (82.18 \pm 5.44); (72.87 \pm 5.06); (63.93 \pm 6.40)\}$. GDP cenderung mengalami penurunan pada kedua kelompok hingga hari ke-11 injeksi DMPA. Paparan akut progesteron memacu peningkatan sekresi insulin sehingga menstimulasi ambilan glukosa pada sel otot hati, otot dan lemak. Paparan progesteron mendominasi pengaruh GDP di awal perlakuan sedangkan pengaruh latihan fisik belum segera dapat diamati.

Latihan fisik mulai memperlambat penurunan GDP pada hari ke-11 hingga hari ke-18 injeksi DMPA. Tikus yang terlatih mengalami penurunan ketergantungan terhadap rangsangan insulin dalam menstimulasi ambilan glukosa otot melalui pengaktifan sinyal Ca^{2+} dan AMPK sebagai jalur alternatif. Penurunan kebergantungan otot terhadap insulin menghindarkan tikus yang terlatih dari pengaruh negatif paparan kronis progesteron yang ditandai dengan fenomena titik balik.

Fenomena titik balik ditemukan pada tikus dari kelompok kontrol namun tidak pada kelompok tikus yang terlatih. Latihan fisik mencegah pengaruh negatif paparan kronis progesteron pada tikus yang terlatih. Temuan ini terbatas pada pengamatan GDP selama 25 hari dan perlu diverifikasi dengan tambahan waktu pemeriksaan secara molekuler dan imunohistokimia.

SUMMARY

The increase of diabetic prevalence in women was concurrent with number of gestational diabetic (GDM) patients. Impaired glucose tolerance during pregnancy was one of the primary risk factors which need to be prevented. Physical training was recommended beside diet in primary prevention of diabetes, but physical training alone was more effective than diet. The roles of physical training in preventing glucose intolerance during pregnancy were still unclear yet.

GDM was found more frequently in the 32nd week of gestational, which progesterone concentration reached peak level in blood. The role of progesterone in glucose intolerance during pregnancy had been studied by DMPA administered rats. Blood glucose decrease in the early exposure (6-11 days) of progesterone than it rise after 18 days (chronic exposure). This was identified as turning point and tried to be prevented by physical training.

Fasting blood glucose was examined before DMPA administered and after 11, 18 and 25 days DMPA administered. Control group (P1) was 16 DMPA only injected rats and treatment group (P2) was 16 DMPA injected rats which also did physical training. Physical training was defined as swimming 3 times a week with 50 % maximal work capacity. Blood glucose changes were analyzed time series by ANOVA and the different between two groups was analyzed by t-test for independent samples.

Fasting blood glucose on control group (P1) at day of 0, 11, 18 and 25 were shown as $\{(101.50 \pm 5.52); (80.12 \pm 5.17); (62.81 \pm 6.44173); (89.25 \pm 13.82)\}$ and fasting blood glucose on treatment group (P2) were shown as $\{(102.62 \pm 5.66); (82.18 \pm 5.44); (72.87 \pm 5.06); (63.93 \pm 6.40)\}$. Blood glucose tends to decrease in both of groups until

11 days of DMPA injection. Acute progesterone exposures increased insulin secretion and enhanced glucose uptake stimulation in muscle, liver and fat cells. Progesterone exposure influenced dominantly and the effect of physical training could not be seen immediately in the early of exposure.

Physical training started to slow blood glucose decrease during 11 until 18 days exposures. Trained rats muscle decrease insulin dependency in glucose uptake stimulation by activation of Ca^{2+} and AMPK signaling as alternative pathways. Insulin independent muscle avoided trained rats from the effect of chronic progesterone exposure which signed as the turning point phenomenon.

The turning point phenomena were found in control group but not in trained rats. Physical training was prevented rats from the effect of chronic progesterone exposure. These findings were restricted for 25 days examination and need to be verified by additional time, molecular and immunohistological examination.

ABSTRACT

The Effect of Physical Training in the Pattern of Blood Glucose Level on Depo Medroxyprogesterone Acetate (DMPA) Injected Rats

Chronic progesterone exposure impaired glucose tolerance due to muscle glucose uptake inhibition. The roles of physical training in preventing glucose intolerance during pregnancy were still unclear yet. This study was aimed to examine the effect of physical training on progesterone induced pseudo pregnant rats.

Thirty two rats were chosen and grouped in to control group (P1) and treatment group (P2). Control group was DMPA injected rats and treatment group was DMPA injected rats which also done physical training. DMPA injection was used to increase blood progesterone level similar with the peak of progesterone level during pregnancy. DMPA was administered by 20 mg intramuscularly injection. Treatment rats were trained by swimming 3 times a week at 50 % intensity of work capacity. Blood glucose levels were examined at 0, 11, 18 and 25 days of treatment.

There was not difference between control and treatment groups on glucose level until 11 days progesterone exposure, but physical training started to slow glucose level decrease during 11-18 days. Trained rats were also avoided from turning point phenomenon in the chronic progesterone exposure.

Physical training prevented turning point due to independent muscle from insulin signaling. These findings were restricted for 25 days examination and need to be verified by molecular and immunohistological examination.

Keywords: Physical training, blood glucose level, DMPA

M I L I K
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	viii
Summary	x
Abstract	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Insulin dan Ambilan Glukosa Otot	5
2.2 Progesteron dan Patofisiologi GDM	9
2.3 Latihan Fisik dan Pencegahan GDM	13

2.3.1 Aktifitas fisik dan ambilan glukosa otot	13
2.3.2 Latihan fisik pada penderita Diabetes Mellitus (DMT2)	15
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL dan HIPOTESIS	17
3.1 Kerangka Konseptual	17
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian	18
3.2 Hipotesis	18
BAB 4 METODE PENELITIAN	19
4.1 Rancangan Penelitian	19
4.2 Populasi, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel	19
4.3 Variabel Penelitian	20
4.3.1 Variabel bebas	20
4.3.2 Variabel tergantung	20
4.3.3 Variabel kendali	20
4.3.4 Definisi operasional	20
4.4 Bahan Penelitian	22
4.5 Instrumen Penelitian	22
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	23
4.7 Prosedur Penelitian	23
4.7.1 Aklimatisasi hewan coba	23
4.7.2 Pembagian kelompok	23
4.7.3 Pengukuran berat badan pra perlakuan	23
4.7.4 Pengambilan data pra perlakuan	24
4.7.5 Perlakuan injeksi DMPA dan latihan renang	24
4.7.6 Pengambilan data setelah perlakuan	25

4.7.7 Prosedur pemeriksaan kadar glukosa darah	25
4.8 Analisis Data	27
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	28
5.1 Deskripsi Data Pengamatan Kadar Glukosa Darah	28
5.2 Analisis Data Kadar Glukosa Darah Setelah Perlakuan	29
BAB 6 PEMBAHASAN	32
6.1 Pengaruh Injeksi DMPA Terhadap Perubahan Kadar Glukosa Darah	32
6.2 Pengaruh Latihan Fisik Terhadap Perubahan Kadar Glukosa Darah Akibat Injeksi DMPA	34
6.3 Perbedaan Respon Kadar Glukosa Darah dan Periode Paparan Antar Kelompok Perlakuan	37
6.4 Latihan Fisik dan Upaya Pencegahan Intoleransi Glukosa Semasa Kehamilan	40
BAB 7 PENUTUP	42
7.1 Kesimpulan	42
7.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
Lampiran	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur GLUT4	5
Gambar 2.2 Insulin reseptor dan ekspresi GLUT4 pada membran otot rangka	6
Gambar 2.3 Mekanisme molekuler ambilan glukosa	8
Gambar 2.4 Mekanisme fusi GLUT-4	9
Gambar 2.5 Perubahan kadar hormon semasa kehamilan	10
Gambar 2.6 Turning point dan degradasi IRS-1	12
Gambar 2.7 Mekanisme latihan fisik memicu ambilan glukosa otot	14
Gambar 2.8 Respon endokrin terhadap intensitas latihan	16
Gambar 4.1 Skema alur kerja penelitian	26
Gambar 5.1 Kadar glukosa darah puasa (GDP)	29
Gambar 5.2 Perbandingan kadar GDP kedua kelompok hari ke-18 dan 25	31

DAFTAR TABEL

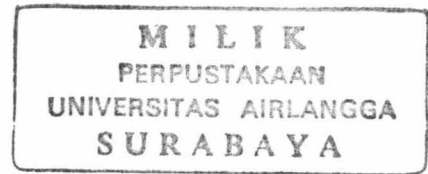
Tabel 5.1 Berat badan dan kadar glukosa darah puasa sebelum perlakuan	28
Tabel 5.2 Analisis data kadar GDP antar periode pengamatan	30
Tabel 5.3 Uji t bebas terhadap respon perubahan kadar GDP	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Foto dan gambar penelitian	46
Lampiran 2 Hasil analisis statistik	47

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Jumlah penderita *diabetes mellitus* tipe 2 (DMT2) di Indonesia pada tahun 2000 mencapai 8,4 juta jiwa. Distribusi DMT2 mengalami pergeseran tiap tahun dan kecenderungan peningkatan jumlah penderita wanita DMT2 lebih besar dibandingkan pria. *World Health Organization* (WHO) memprediksikan bila tidak dilakukan pencegahan, maka pada tahun 2030 jumlah penderita DMT2 di Indonesia dapat mencapai 21,3 juta jiwa, terbanyak ke-4 setelah India, Cina dan Amerika Serikat (Wild, 2004).

Peningkatan jumlah penderita wanita DMT 2 diduga disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain: peningkatan penderita *gestational diabetes mellitus* (GDM), penggunaan kontrasepsi hormonal dan perubahan pola hidup wanita. Riwayat intoleransi terhadap glukosa (IGT) semasa kehamilan didapatkan dari 90 % ibu yang menderita DMT2 dalam kurun waktu 3-5 tahun setelah melahirkan (Tracy, 2005).

Prevalensi GDM bervariasi di beberapa negara, berkisar antara 1-14 % dan cenderung mengalami peningkatan tiap tahun. Skrining masal GDM mencatat 200.000 kasus baru terdeteksi tiap tahun melalui di Amerika Serikat. Data penderita GDM dari hasil skrining secara nasional di Indonesia belum banyak diketahui, namun beberapa penelitian epidemiologis menunjukkan bahwa GDM didapatkan sebesar 7 % dari kehamilan ibu di tahun 2003 (*Internasional Diabetes Federation*, 2003; Tracy, 2005).

Keterlibatan hormon progesteron di dalam patofisiologi GDM telah dibuktikan dari penelitian *invitro* hingga *invivo*. Sensitifitas skrining GDM meningkat dua kali lipat pada kadar puncak hormon progesteron yang tercapai di minggu ke-32 kehamilan. Kadar puncak hormon progesteron di dalam darah terdeteksi hingga mencapai 100 ng/ dl. Pemberian injeksi 20 mg depo *medroxyprogesteron acetate* (DMPA) tiap minggu secara intramuskular (im) meningkatkan kadar progesteron tikus hingga menyebabkan intoleransi glukosa di minggu ke-12 perlakuan (Roveri, 2000; Xiang, 2005).

Beberapa penelitian mencoba untuk membuktikan pengaruh kadar dan periode paparan progesteron terhadap metabolisme dan regulasi glukosa. Paparan akut terhadap kadar puncak progesteron selama 6-11 hari menyebabkan peningkatan ambilan glukosa oleh jaringan (otot, hati dan lemak) yang sensitif terhadap insulin sehingga kadar glukosa darah cenderung turun. Paparan kronis terhadap kadar puncak progesteron lebih dari 11 hari merubah kecenderungan penurunan menjadi peningkatan kadar glukosa darah (*turning point*). Ambilan glukosa pada jaringan (otot, hati dan lemak) yang sensitif terhadap insulin mengalami gangguan dan fungsi sel beta pankreas mengalami kemunduran (Gonzalez *et al.*, 2000; Ordoñez *et al.*, 2006)

Injeksi 20 mg DMPA tiap minggu memberikan pengaruh serupa terhadap perubahan kadar glukosa darah. Perubahan kecenderungan (*turning point*) kadar glukosa darah terjadi setelah hari ke-18 injeksi DMPA. Analisis imunohistokimia terhadap otot sartorius tikus tersebut menunjukkan terjadi penurunan jumlah ekspresi *glucose transporter-4* (GLUT4) pada membran sel dan *insulin receptor substrate-1* (IRS-1) ditemukan mengalami degradasi.

Intoleransi glukosa diduga dapat dicegah bila peningkatan kadar glukosa darah dapat dicegah setelah hari ke-18 injeksi 20 mg DMPA (Santoso, 2005; Ordoñez *et al.*, 2006). Metode pencegahan tersebut hingga saat ini belum dapat diketahui secara jelas.

Pencegahan intoleransi glukosa semasa kehamilan merupakan bagian dari upaya pencegahan primer DMT2 yang meliputi pengaturan pola makan (diet) dan latihan fisik. Latihan fisik berupa olahraga sendiri memiliki efektifitas pencegahan lebih tinggi dibandingkan dengan diet atau kombinasi diet dengan olahraga. Aktifitas fisik di dalam olahraga melibatkan kontraksi otot rangka yang dapat memicu peningkatan ambilan glukosa. Otot secara independen mampu meningkatkan ambilan glukosa melalui mekanisme lain yang tidak melibatkan insulin (Campbell, 2002; D'eon *et al.*, 2002). Peningkatan jumlah dan aktivitas Ca^{2+} intraseluler yang terjadi selama kontraksi berlangsung berkorespondensi dengan peningkatan ambilan glukosa otot. Penelitian lain membuktikan bahwa penurunan ATP yang terjadi saat kontraksi berlangsung, memicu sintesis *adenosine 5' monophosphate kinase* (AMPK) yang kemudian diketahui merupakan *downstream* jalur alternatif ambilan glukosa otot (Hardie, 2004; Jessen, 2005; *American Diabetes Association*, 2007)

Latihan fisik sebagai salah satu alternatif konsep solusi pencegahan intoleransi glukosa pada model kehamilan. Latihan fisik diharapkan dapat menghambat kecenderungan peningkatan kadar glukosa darah (*turning point*) melalui pengaktifan jalur alternatif ambilan glukosa yang diperankan oleh

Ca^{2+} dan AMPK. Pengaruh latihan fisik terhadap perubahan kadar glukosa darah akan diamati secara serial dalam kurun waktu 25 hari perlakuan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian yang diajukan adalah sebagai berikut :

Apakah latihan fisik dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah tikus setelah hari ke-18 injeksi 20 mg DMPA tiap minggu secara intramuskular?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan latihan fisik dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah tikus setelah hari ke-18 injeksi 20 mg DMPA tiap minggu secara intramuskular

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi masyarakat terutama bagi ibu hamil, institusi dan kemajuan IPTEKS. Manfaat yang ingin diperoleh adalah sebagai berikut :

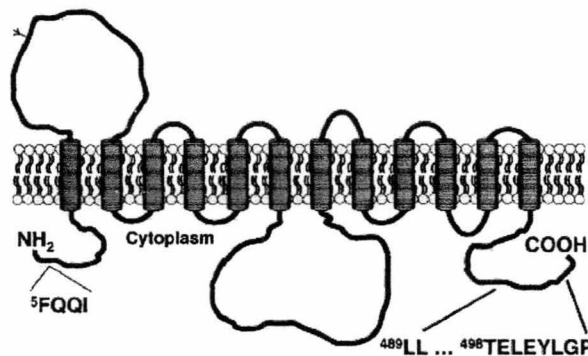
1. Memberikan informasi ilmiah dalam rangka pengembangan metode pencegahan GDM pada ibu hamil
2. Latihan fisik menjadi salah satu alternatif pencegahan intoleransi glukosa yang mudah dan murah pada ibu hamil

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Insulin dan Ambilan Glukosa Otot

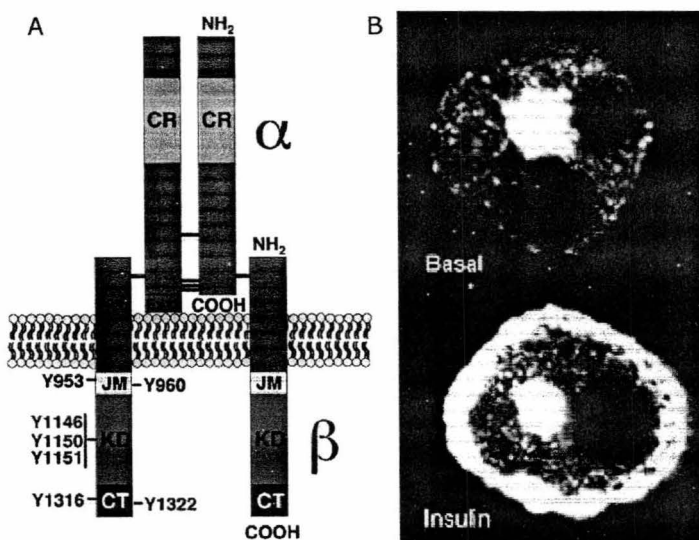
Glukosa tidak dapat melintasi membran sel otot rangka secara difusi berdasarkan perbedaan gradien konsentrasi. Transport glukosa melintasi membran sel otot rangka dilakukan melalui difusi yang difasilitasi oleh transporter khusus yang dikenal dengan *glucose transporter 4* (GLUT-4). GLUT-4 dalam kondisi inaktif merupakan vesikel yang ditampung di dalam *transgolgi network* (TGN). Vesikel tersebut dilapisi oleh membran lipid bilayer yang identik dengan sarkolemma dan memiliki protein transmembran. GLUT-4 yang aktif melakukan translokasi dan melakukan fusi dengan membran sel otot rangka terutama di daerah t tubule. Protein transmembran yang semula tertutup menjadi terbuka dan memungkinkan molekul glukosa masuk melewati saluran khusus tersebut. Struktur GLUT-4 dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 2.1 Struktur GLUT-4. Protein integral yang berada pada membran vesikel lipid bilayer (Watson, 2001)

Pengaktifan GLUT-4 melibatkan serangkaian reaksi molekuler (*cascade*) yang dipicu oleh stimulus khusus. Sebagian besar ambilan glukosa otot dipengaruhi oleh keberadaan hormon insulin hingga saat ini. Hormon insulin diproduksi oleh sel beta dari pulau langerhans yang berada di pankreas. Sekresi hormon insulin dipicu oleh peningkatan plasma glukosa, seperti *post prandial* atau *glucose challenge* pada prosedur pemeriksaan tes toleransi glukosa (GTT). Translokasi GLUT 4 diketahui juga dapat dipicu oleh stimulus lain yang tidak melibatkan insulin. Beberapa ahli mengkaitkan peran stimulus ini dengan aktifitas fisik seperti olahraga (Tatsuya, 1997)

Otot memiliki reseptor insulin pada sarkolema yang terdiri atas 2 rantai α dan β . Rantai α terletak di membran luar dari sarkolema, sedangkan rantai β terletak transmembran dan sebagian besar berhadapan dengan sisi sitoplasma. Insulin yang *docking* pada rantai α reseptor insulin memicu reaksi autofosforilasi berantai pada *tyrosine site* rantai β (Watson, 2001)



Gambar 2. 2(A). Insulin resptor α dan β . (B) pengaruh insulin meningkatkan ekspresi GLUT-4 pada membran sel otot rangka (Watson, 2001)

Fosforilasi pada *tyrosine site* rantai β reseptor insulin memicu fosforilasi *serine site* pada molekul *insulin receptor substrate* (IRS 1 – IRS 4). IRS-1 dan IRS 3 memiliki peran paling dominan terhadap signalling dari stimulus insulin. IRS yang terfosforilasi mengaktifkan :

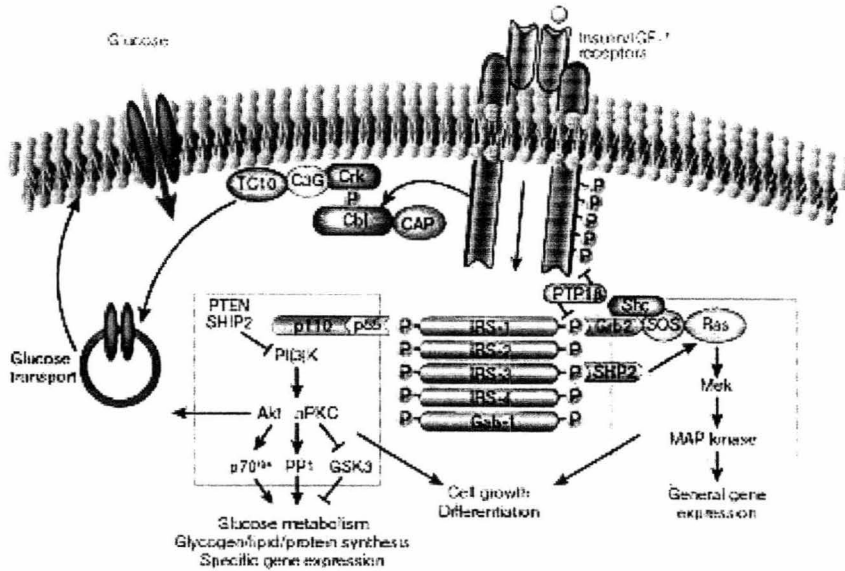
1. jalur *phosphatidylinositol 3 kinase* (IP-3 kinase) yang mempengaruhi metabolisme sel, dan
2. serangkaian *G protein* yang berhubungan dengan ekspresi gen (Watson, 2001)

Peranan dan fungsi masing-masing IRS berbeda-beda dan masih belum banyak diketahui. Peran dan fungsi IRS diketahui dari uji coba dengan melakukan *knock out* terhadap IRS tersebut. *Knock out* terhadap IRS-1 dan IRS-2 menyebabkan gangguan pertumbuhan, diabetes dan resistensi terhadap insulin. *Knock out* terhadap pasangan IRS-1/IRS-3 menyebabkan lipoatrofi berat dan penurunan produksi leptin. Tikus yang mengalami *knock out* terhadap pasangan IRS-1/IRS-2 mengalami hiperglikemia yang disertai hiperinsulinemia. Sedangkan *knockout* terhadap IRS-4 belum banyak diketahui memberikan efek (Saltiel, 2001)

Reaksi selanjutnya mengikuti 3 pola berikut ini :

1. Aktifitas *phosphatidylinositol 3 kinase* (IP3 kinase) yang terkait dengan pengendalian metabolisme sel otot.
2. Aktifitas *Ras* dan *MAP kinase* yang terkait dengan ekspresi gen dan sintesa protein termasuk *glucose transporter 4* (GLUT-4).
3. Aktifitas *signalling* lain yang tidak melibatkan reaksi fosforilasi IRS. Aktifitas jalur ini melibatkan sejumlah protein membran seperti *Caveolin*,

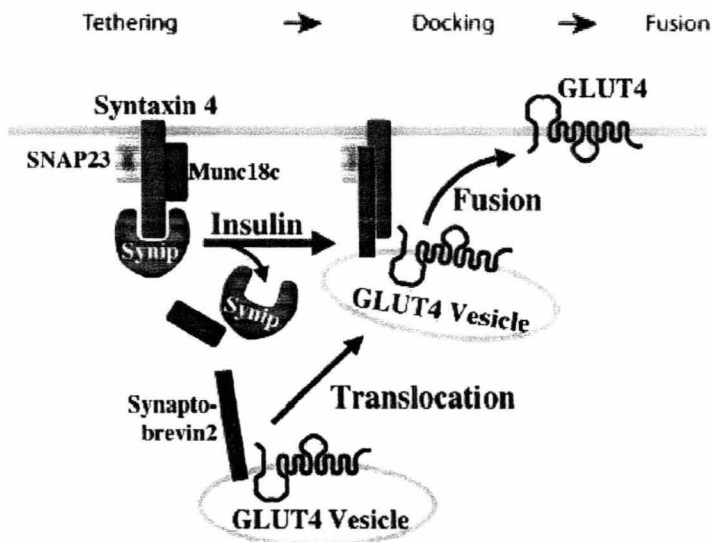
Cab, *Cbr* dan *Crk* dalam membantu translokasi GLUT-4 menuju sarkolemma (Saltiel, 2001)



Saltiel and Kahn, Nature 414, 799-806, 2001

Gambar 2.3 Mekanisme molekuler ambilan glukosa yang dimediasi insulin (insulin dependent stimulus).

Translokasi GLUT-4 diikuti oleh peristiwa fusi GLUT-4 pada sarkolema. Fusi adalah peristiwa penyatuan vesikel yang membawa GLUT-4 dengan membran sel. Peristiwa fusi GLUT-4 pada membran sel berlangsung dalam 3 tahapan, antara lain: *thatering*, *docking* dan *fusion*. Fusi melibatkan protein *t SNARE* dan *Syntaxin* pada membran plasma dan *v SNARE* pada vesikel GLUT-4 (*synapto brevin-2*). Stimulus insulin menyebabkan perubahan konformasi kompleks *t SNARE* protein dengan *Syntaxin* pada membran sehingga *v SNARE* GLUT-4 dapat melakukan *docking*. Vesikel GLUT-4 yang docking akan melepaskan protein GLUT-4 untuk kemudian mengadakan fusi dengan membran plasma (Watson, 2001)

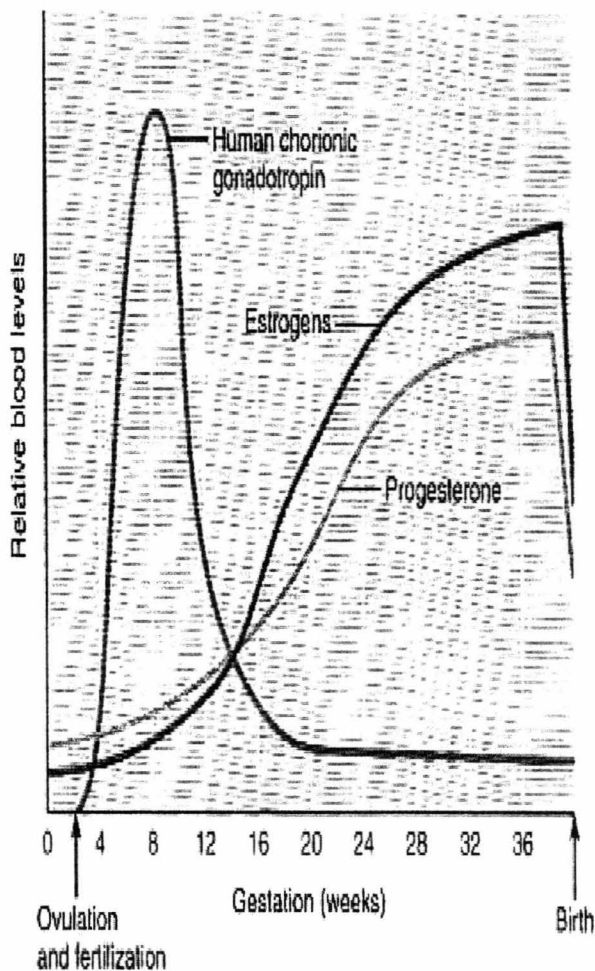


Gambar 2.4 Mekanisme fusi GLUT-4 pada membran sel otot yang melalui 3 tahap dan membutuhkan bantuan dari protein t SNARE dan Syntaxin (Watson, 2001)

2.2 Progesteron dan Patofisiologi *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM)

GDM adalah intoleransi glukosa yang pertama kali terdeteksi pada masa kehamilan. Intoleransi glukosa (IGT) didefinisikan sebagai kadar glukosa darah puasa yang berada pada kisaran 100 – 120 mg/ dl dan atau kadar glukosa 2 jam *post prandial* pada kisaran 140 – 200 mg/ dl. Intoleransi glukosa yang terjadi semasa kehamilan merupakan salah satu faktor resiko bagi wanita menderita DMT2 setelah melahirkan. Sembilan puluh persen wanita GDM, menderita DMT2 setelah 3-5 tahun melahirkan (Tracy, 2005).

Patofisiologi GDM tidak dapat dilepaskan dari ketelibatan perubahan hormon selama kehamilan. Beberapa hormon yang diindikasikan memiliki efek *diabetogenic* dan meningkat selama kehamilan antara lain: kortisol, progesteron dan *human placenta lactogen* (HPL). Kecurigaan peran progesteron pada patofisiologi GDM muncul karena skrining GDM mengalami peningkatan sensitifitas dua kali lipat saat kadar progesteron mencapai puncak pada umur 32 minggu kehamilan (Xiang, 2005).



Gambar 2.5 Perubahan kadar hormon semasa kehamilan. Kadar puncak progesteron dicapai setelah minggu ke-32 kehamilan (Mahrieb, 2006)

Penelitian lebih lanjut mengujicoba pengaruh progesteron pada tikus yang telah diovariectomi. Progesteron terbukti menyebabkan gangguan ambilan glukosa dengan menurunkan sensitifitas jaringan terhadap stimulus insulin. Sensitifitas insulin dapat diperbaiki dengan memberikan estrogen pada tikus tersebut. Intoleransi glukosa ditemukan pada tikus yang mendapatkan injeksi 20 mg DMPA secara intramuskular selama 12 minggu (Gonzalez *et al.*, 2000; Roveri, 2001).

Pengaruh akut dan kronis progesteron dipelajari melalui uji coba pemberian DMPA secara intra muskular pada tikus. Tikus putih betina yang

diinjeksi 20 mg DMPA tiap minggu secara intramuskular dalam kurun waktu 6-11 hari mengalami penurunan kadar glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah terjadi akibat pengaruh akut progesteron (Santoso, 2005; Ordoñez *et al.*, 2006).

Pemberian progesteron eksternal dalam jumlah besar, seperti injeksi DMPA selama 6-11 hari meningkatkan aktifitas ambilan glukosa. Peningkatan ambilan glukosa bukan disebabkan oleh peningkatan respon jaringan (otot, hati dan lemak) terhadap insulin, namun diduga terkait dengan peningkatan kadar insulin plasma secara serial (Gonzalez *et al.*, 2000; Ordoñez *et al.*, 2006)

Penelitian lain membuktikan bahwa peningkatan kadar progesteron meningkatkan perangsangan terhadap *progesteron receptor* (PR) pada sel beta pankreas. Apoptosis dihambat dan sel beta masuk ke dalam fase proliferasi. Proliferasi menyebabkan peningkatan ukuran dan jumlah sel beta menjadi dua kali dari semula (Quirk, 2004).

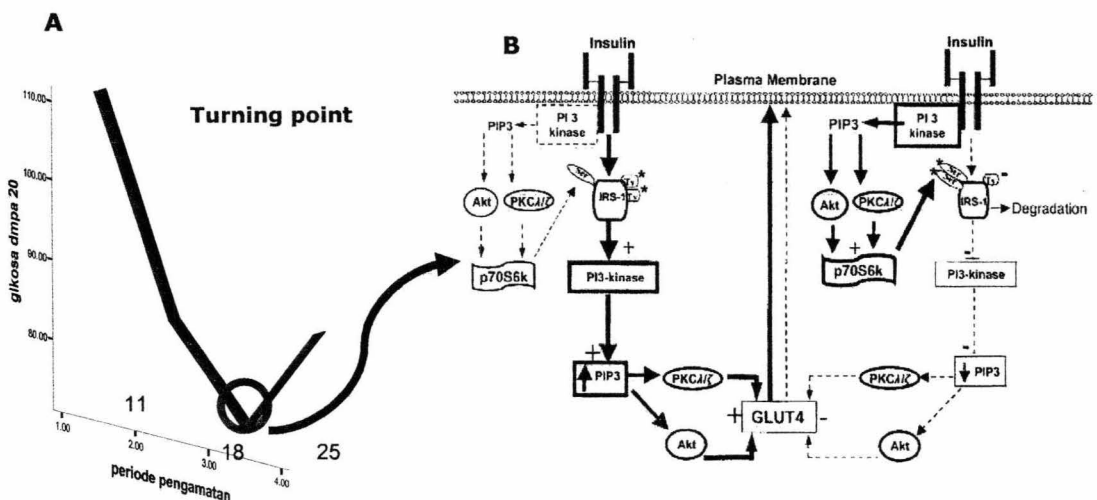
Fenomena peningkatan insulin plasma akibat perangsangan yang berulang kali pada PR didekati dari mekanisme *down regulation*. Picard *et al.*, (2002) menyatakan bahwa *down regulation* menyebabkan penurunan jumlah PR dan memicu respon proliferasi sel beta pankreas.

Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan pengaruh akut DMPA terjadi sampai dengan hari ke-18 injeksi. Semakin besar dosis DMPA yang diinjeksikan, semakin besar penurunan kadar glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah terbesar terjadi pada tikus putih betina yang diinjeksi dengan 20 mg DMPA secara intramuskular (Santoso, 2005).

Fenomena menarik ditemukan pada pemberian DMPA lebih dari 11 hari. Kecenderungan kadar glukosa darah yang terus menurun mengalami titik balik dan meningkat setelah hari ke-18 injeksi. *Turning point* terjadi pada hampir seluruh kelompok dosis, namun peningkatan kadar glukosa yang nyata didapatkan pada tikus putih betina yang diinjeksi 20 mg DMPA (Santoso, 2005; Purwanto, 2006)

Peningkatan kadar glukosa darah terjadi akibat gangguan ambilan glukosa jaringan (otot, hati dan lemak). Gangguan ambilan glukosa dibuktikan dengan penurunan ekspresi *Glucose transporter 4* (GLUT 4) pada membran sel otot sartorius tikus putih betina (Shao *et al.*, 2002; Picard *et al.*, 2002).

Insulin receptor substrat-1 (IRS-1) ditemukan mengalami degradasi pada saat kadar glukosa darah meningkat. IRS-1 mengalami fosforilasi oleh *Phosphatidylinositol 3 kinase* (PI-3 kinase) pada kaki serine sehingga menjadi inaktif. Translokasi GLUT4 menuju membran menjadi terhambat dan mekanisme ambilan glukosa otot yang diperantarai insulin tidak berjalan (Vaßen, 1999; Shao *et al.*, 2002; Mullany, 2004).



Gambar 2.6 (A) Turning point : kadar glukosa darah meningkat setelah hari ke-18 injeksi DMPA (Santoso, 2005). (B) Mekanisme degradasi IRS-1 (Shao *et al.*, 2002)

2.3 Latihan Fisik dan Pencegahan *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM)

2.3.1 Aktifitas fisik dan ambilan glukosa otot

Ambilan glukosa otot diketahui meningkat saat melakukan aktivitas fisik. Kontraksi otot memicu peningkatan transport glukosa melintasi membran sel secara difusi terfasilitasi GLUT4. Jumlah GLUT4 yang terekspresi pada membran sel otot epitrochlear tikus meningkat secara bermakna setelah dikontraksikan. Aktifitas fisik diketahui juga meningkatkan produksi GLUT 4 melalui aktivitas *myocyte enhancer factor 2* (MEF2) yang merupakan *transcriptional factor* untuk GLUT 4 (Dohm, 2002; Fueger *et al.*, 2004).

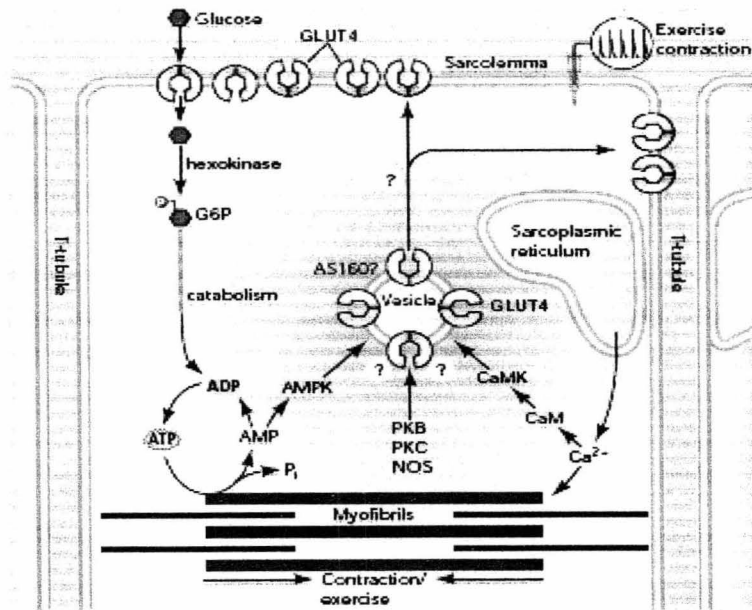
Ambilan glukosa otot berkontraksi tidak bergantung pada kadar insulin di dalam darah, meskipun berdasarkan hasil uji coba membuktikan bahwa aktivitas fisik juga meningkatkan sensitifitas insulin pada otot rangka. Peningkatan ekspresi akt dan *glycogen synthase kinase* (GSK-3) selama dan setelah aktifitas fisik berlangsung merupakan bukti sensitifitas insulin meningkat. Peningkatan ambilan glukosa otot pada kontraksi otot berkorelasi dengan peningkatan Ca^{2+} intrasel dan AMP kinase (Peres *et al.*, 2005; Jessen, 2005).

Depolarisasi membran yang memicu kontraksi otot, menyebabkan deplesi Ca^{2+} dari sarkoplasmik retikulum (SR). Ca^{2+} meningkat di dalam sitosol dan mengaktifkan Ca^{2+} *sensitive pathways* yang melibatkan *calmodulin calcium mediated kinase II* (CaMKII) dan *conventional protein kinase C* (cPKC). *Downstream* dari kedua senyawa tersebut diduga

substansi yang ikut menggerakkan mekanisme translokasi GLUT4 menuju membran sel otot rangka (Ishiki, 2005; Jessen, 2005)

Kontraksi otot rangka membutuhkan energi yang berasal dari pemecahan ATP menjadi ADP dan AMP. Energi yang dipakai dalam 10 detik pertama kontraksi otot diperoleh dari cadangan ATP-PC di dalam otot rangka. Saat cadangan ATP-PC menipis maka AMP akan dirubah menjadi AMPkinase (AMPK) dan menghambat pemecahan cadangan ATP lebih lanjut. Kebutuhan energi lebih lanjut bergantung dari ambilan glukosa otot melalui *AMP sensitive pathways* (Jorgensen, 2006).

Semakin besar intensitas kerja yang dilakukan, semakin banyak ATP yang dipecah maka semakin tinggi aktifitas AMPK. Peningkatan aktifitas AMPK otot rangka diketahui tidak berbeda pada olahraga bersepeda dengan intensitas moderat maupun pada nomor lari sprint dengan intensitas yang tinggi (Fueger *et al.*, 2004; Jessen, 2005).



Gambar 2.7 Mekanisme latihan fisik memicu peningkatan ambilan glukosa otot (Richter, 2005)

2.3.2 Latihan fisik pada penderita GDM

Pencegahan intoleransi glukosa semasa kehamilan (GDM) merupakan bagian dari upaya pencegahan primer DM2 yang meliputi pengaturan pola makan (diet) dan latihan fisik. Latihan fisik berupa olahraga sendiri memiliki efektifitas pencegahan lebih tinggi dibandingkan dengan diet atau kombinasi diet dengan olahraga (Pan *et al.*, 1997)

Upaya preventif dan kuratif terhadap GDM diarahkan pada peningkatan ambilan glukosa otot rangka. Selain obat anti diabetes (OAD), aktivitas fisik seperti olahraga juga direkomendasikan di berbagai pusat kesehatan. Kontraksi otot rangka yang menyertai aktivitas fisik meningkatkan ambilan glukosa otot tanpa dipengaruhi oleh kadar insulin darah. Kontraksi otot rangka mengaktifkan lebih dari satu mekanisme yang memicu translokasi GLUT 4 menuju membran sel (Sigal, 2004).

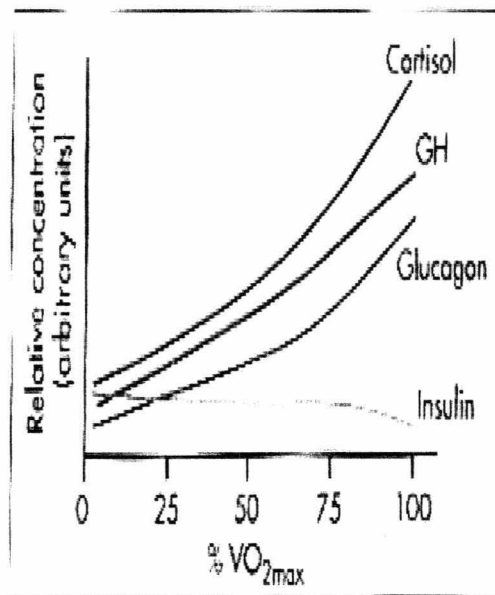
Pengaruh aktivitas fisik terhadap peningkatan ambilan glukosa otot dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: intensitas, durasi, metode dan repetisi. Aktivitas fisik yang terpola dengan memperhatikan faktor-faktor tersebut merupakan suatu bentuk latihan fisik (Fox *et al.*, 1993).

Intensitas terkait dengan beban kerja yang harus dilakukan. Intensitas dapat ditentukan melalui prosentase dari kerja maksimal, denyut jantung dan volume maksimal ambilan oksigen (VO₂ max). Semakin berat intensitas kerja yang dilakukan, makin besar kebutuhan energi yang diperoleh dari pemecahan ATP (Fox *et al.*, 1993).

Latihan fisik yang direkomendasikan untuk pencegahan DM adalah aktifitas fisik selama 150 menit per minggu yang terbagi menjadi 3 x

seminggu dengan intensitas moderat antara 50 – 70 %. Sejumlah penelitian memberikan rekomendasi bagi penderita GDM untuk tidak melakukan aktivitas fisik berat. Rekomendasi tersebut dikeluarkan berdasarkan beberapa pertimbangan antara lain :

1. aktifitas fisik berat dikhawatirkan memberikan pengaruh buruk bagi perkembangan janin dan prematuritas.
2. Fenomena hipoglikemi akut yang berpotensi muncul bila penderita DM2 melakukan aktifitas fisik berat atau lebih dari 85 % dari kapasitas kerja maksimal.
3. Respon endokrin terhadap berbagai intensitas latihan menunjukkan bahwa semakin besar intensitas latihan menyebabkan peningkatan kadar kortisol dan glukagon, sehingga kadar glukosa darah juga beresiko mengalami peningkatan (Fox *et al.*, 1993; Robergs, 2003; Sigal, 2004).

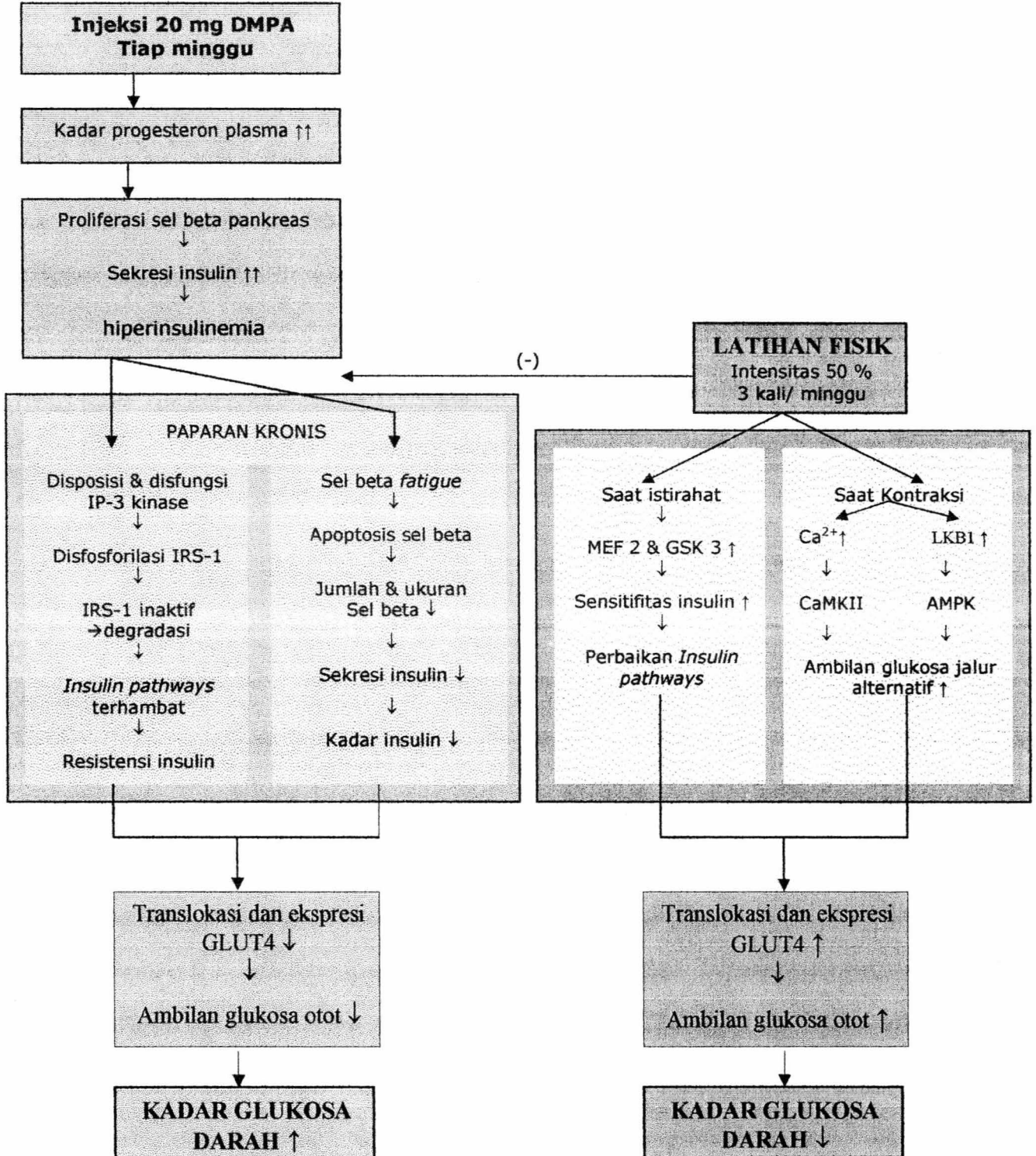


Gambar 2.8 Respon endokrin terhadap berbagai intensitas latihan (Robergs, 2003)

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL dan HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Injeksi 20 mg DMPA tiap minggu secara intramuskular meningkatkan kadar progesteron plasma. Peningkatan kadar progesteron plasma dalam 6-11 hari (fase akut) memicu proliferasi sel beta sehingga kadar insulin meningkat. Peningkatan kadar insulin memacu ambilan glukosa otot sehingga kadar glukosa darah turun. Bila injeksi DMPA dilanjutkan lebih dari 11 hari, kadar progesteron plasma yang tinggi menyebabkan degradasi IRS-1 pada sel otot rangka. Jalur insulin yang memicu ambilan glukosa otot menjadi terhambat sehingga kadar glukosa darah mengalami peningkatan. Peningkatan kadar glukosa darah (*turning point*) terjadi setelah hari ke-18 injeksi DMPA.

Latihan fisik dapat meningkatkan ambilan glukosa otot tanpa dipengaruhi kadar insulin dalam plasma. Latihan fisik yang dilakukan selama pemberian DMPA berlangsung dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan memicu ambilan glukosa otot sehingga. Transkripsi, translokasi dan ekspresi GLUT 4 pada membran sel otot rangka dapat dipertahankan. Peningkatan kadar glukosa darah (*turning point*) setelah hari ke-18 injeksi DMPA tidak terjadi.

3.3 Hipotesis

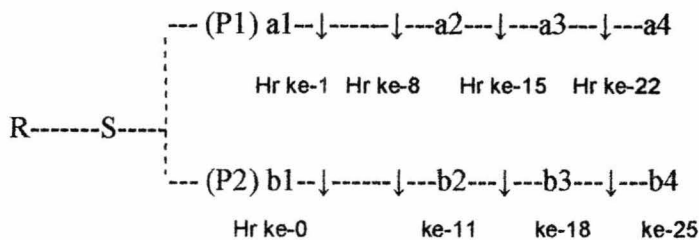
Latihan fisik diduga dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah tikus setelah hari ke-18 injeksi 20 mg DMPA tiap minggu secara intramuskular

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang menggunakan rancangan acak lengkap (*'the randomized pretest and posttest control group design'*) dan diilustrasikan melalui bagan sebagai berikut :



Keterangan :

R	: randomisasi	↓	: waktu injeksi	
P1	: inj DMPA	a1	: pretest P1	a2-4 : posttest P1
P2	: Inj DMPA + lat. Fisik	b1	: pretest P2	b2-4 : posttest P2

4.2 Populasi, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar*. Besar sampel minimal penelitian eksperimen yang menggunakan rancangan acak lengkap dapat dihitung dengan menggunakan rumus Federer (Hanafiah, 2003) sebagai berikut :

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

$$(2-1)(r-1) \geq 15$$

$$r \geq 16$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

r = jumlah replikasi/ pengulangan pada tiap kelompok perlakuan

Berdasarkan perhitungan, jumlah replikasi atau pengulangan pada tiap kelompok perlakuan adalah 16 kali sehingga besar sampel untuk dua kelompok ditentukan 32 ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas

Latihan fisik

4.3.2 Variabel tergantung

Perubahan kadar glukosa darah tikus

4.3.3 Variabel kendali

1. Jenis hewan coba
2. Jenis dan jumlah pakan hewan coba
3. Pengandangan

4.3.4 Definisi operasional

1. Latihan fisik adalah aktifitas renang dengan intensitas 50 % dari kapasitas kerja maksimal sebanyak 3 kali seminggu selama 25 hari perlakuan di dalam ember plastik berdiameter 50 cm, tinggi 1 meter dan diisi air dengan ketinggian 75 cm dari dasar. Beban berupa klip dikaitkan 2 cm dari pangkal ekor tikus, ditentukan 3 % dari berat badan tikus untuk aktifitas latihan ringan (Kawanaka, 1997)
2. Perubahan kadar glukosa darah tikus adalah perubahan kadar glukosa darah setelah hari ke-18 injeksi DMPA. Kadar glukosa darah tikus adalah hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa pada hari ke-0, 11, 18 dan 25 perlakuan. Kadar glukosa darah ditentukan dalam satuan mg/dl dan diukur

secara enzimatis menggunakan metode GOD-PAP. Setiap sebelum pengambilan sampel darah dilakukan, pakan tikus yang masih tersisa di kandang dibersihkan pada pukul 22.00 WIB. Sampel darah diambil keesokan pagi hari, pukul 06.00 WIB dari sinus orbitalis dekstra dengan menggunakan pipet kapiler dan ditampung pada wadah yang telah diberi antikoagulan.

3. Injeksi DMPA adalah injeksi 20 mg Depo *Medroxyprogesterone acetate* tiap minggu selama 4 kali berturut-turut di hari ke-1, 8, 15 dan 22 dengan menggunakan spuit 1 ml secara intramuskular pada paha kanan bagian dalam tikus. Sediaan diperoleh dari '*depo progestin*' yang mengandung 150 mg DMPA dalam 3 ml pelarut aquadest. Penentuan besar dosis dan interval injeksi (mg/ minggu) ditentukan berdasarkan pengaruh injeksi DMPA terhadap metabolisme dan perubahan kadar glukosa darah tikus secara serial (Roveri *et al.*, 2000; Santoso, 2005)
4. Jenis hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* dengan umur rentang antara 3-4 bulan (dewasa) dan berat badan sebelum perlakuan antara 120-130 gram.
5. Jenis dan jumlah pakan hewan coba adalah makanan ternak jenis PAR-LI (PT. Japfa Comfeed Indonesia Sidoarjo) sejumlah \pm 20 gram/ tikus, dua kali dalam sehari.
6. Pengandangan adalah proses mengandangan tikus ke dalam kandang yang terbuat dari plastik berukuran 60 x 40 x 20 cm dan tertutup ram yang terbuat dari kawat besi. Empat ekor tikus dikandangan dalam satu

kandang tanpa sekat. Pengandangan dilakukan sejak satu minggu sebelum perlakuan hingga hari ke-25 perlakuan.

4.4 Bahan Penelitian

Bahan adalah segala sesuatu yang dikenai perlakuan atau yang dipakai untuk perlakuan (Program Pasca Sarjana Unair, 2004). Bahan penelitian yang digunakan antara lain : tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar*, Depo Geston (3 ml = 150 mg DMPA), tali pengikat beban, beban dari klip kertas (1 klip = 3 gram), ember plastik dengan diameter 50 cm dan tinggi 1 meter yang diisi air setinggi 75 cm, spuit ukuran 3 ml, 1 ml dan pipet kapiler.

4.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan untuk mengumpulkan data kadar glukosa darah adalah PRECINORM[®] U dengan prinsip kerja menggunakan metode enzimatis GOD-PAP. Kadar glukosa diukur dalam satuan mg/dl dengan ketelitian pengukuran hingga 10^{-1} mg/dl. Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan alat PRECINORM[®] U memiliki tingkat kesalahan ± 3 mg/dl. Alat lain yang digunakan adalah timbangan *Torsion Balance* yang memiliki ketelitian 1/10 gram., ember plastik dengan diameter 50 cm, tinggi 1 meter dan kandang yang terbuat dari plastik berukuran 60 x 40 x 20 cm, tertutup ram yang terbuat dari kawat besi

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama dua bulan, mulai (Maret 2006 sampai dengan Mei 2006), di Bagian Ilmu Faal dan Unit Hewan Coba Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Unair. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan bekerjasama dengan Laboratorium Kesehatan Daerah Jawa Timur.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Aklimatisasi hewan coba

Tikus putih betina yang memenuhi kriteria dipilih secara acak sebanyak 32 ekor. Tikus dikandangkan dalam kandang yang terbuat dari plastik berukuran 60 x 40 x 20 cm dan tertutup ram yang terbuat dari kawat besi. Pengandangan dilakukan sejak satu minggu sebelum perlakuan dengan maksud adaptasi hewan coba pada lingkungan baru, hingga hari ke-25 perlakuan.

4.7.2 Pembagian kelompok

Pembagian kelompok dilakukan satu hari sebelum data pra perlakuan diambil 32 ekor tikus dibagi secara acak ke dalam 2 kelompok, sehingga masing-masing kelompok beranggotakan 16 ekor tikus. Kelompok perlakuan pertama (P1) adalah kelompok tikus yang memperoleh injeksi 20 mg DMPA, sedangkan kelompok perlakuan ke-2 (P2) adalah kelompok tikus yang memperoleh injeksi 20 mg DMPA dan melakukan latihan renang.

4.7.3 Pengukuran berat badan pra perlakuan

Pengukuran berat badan tikus dilakukan sebelum pengambilan data pra perlakuan dan pengamatan dilanjutkan tiap minggu. Berat badan diukur

dengan menggunakan timbangan *Torsion Balance* yang memiliki ketelitian 1/10 gram. Data berat badan mewakili kondisi tikus sebelum perlakuan dan digunakan sebagai acuan penentuan berat beban renang. Perbedaan berat badan tikus dalam satu kelompok ataupun antar kelompok dapat mempengaruhi hasil dan analisis penelitian.

4.7.4 Pengambilan data pra perlakuan

Kadar glukosa darah puasa pra perlakuan diperoleh dari pemeriksaan sampel darah tikus yang diambil pada tiap kelompok di hari ke-0. Sampel darah diambil dari sinus orbitalis dekstra dengan menggunakan pipet kapiler kemudian ditampung di dalam tabung kaca yang telah diisi antikoagulan. Sampel tersebut kemudian dibawa ke Laboratorium Kesehatan Daerah Jawa Timur untuk dilakukan pengukuran kadar glukosa dengan menggunakan metode GOD-PAP enzimatis.

4.7.5 Perlakuan injeksi DMPA dan latihan renang

Perlakuan diberikan sejak hari pertama hingga hari ke-25, yang terbagi atas injeksi DMPA dan latihan renang dengan intensitas 50 % dari kapasitas renang maksimal. Injeksi DMPA diberikan secara intramuskular pada otot *quadriceps* tikus kelompok P1 dan P2 dengan dosis 20 mg per minggu (tiap hari sabtu).

Latihan renang diberikan tiga kali seminggu (Senin-Kamis-Sabtu) pada kelompok P2 dengan intensitas 50 % dari kapasitas renang maksimal. Injeksi DMPA kelompok P2 pada hari sabtu dilakukan mendahului latihan renang pada hari yang sama.

Penentuan kapasitas renang maksimal dilakukan sebelum latihan dilakukan dan harus dievaluasi setelah empat minggu kemudian. Kelompok tikus P2 direnangkan dengan diberikan beban 3 % dari berat badan pra perlakuan. Beban berupa klip diikat menggunakan tali pada ekor dengan ketentuan berjarak 2 cm dari pangkal ekor. Kapasitas renang maksimal ditentukan dari kemampuan rerata waktu tempuh tikus dapat berenang sampai dengan tikus tenggelam satu kali dan mengeluarkan gelembung udara (Kawanaka, 1997; Santoso, 2001).

4.7.6 Pengambilan data setelah perlakuan

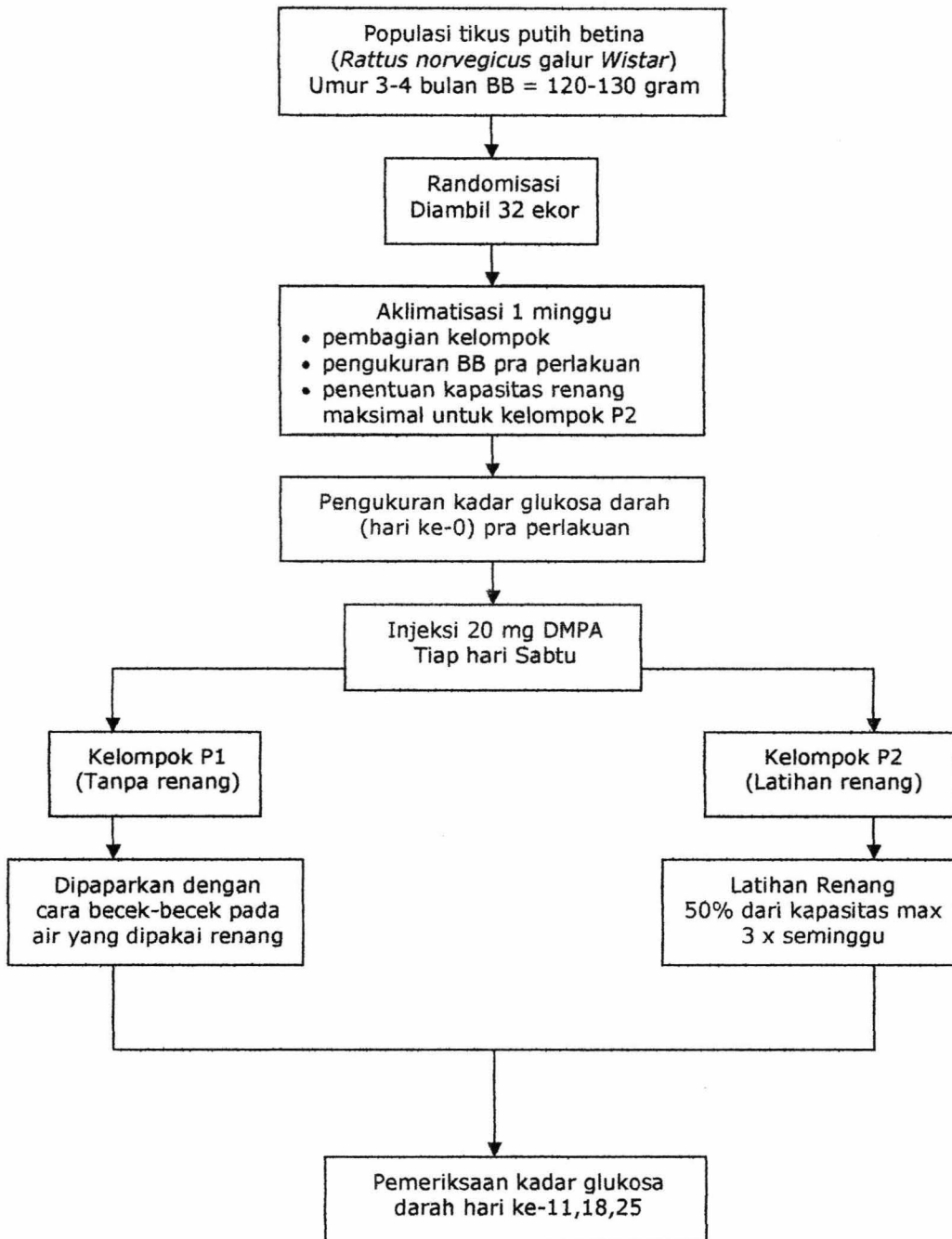
Kadar glukosa darah puasa setelah perlakuan diperoleh dari pemeriksaan sampel darah tikus yang diambil pada tiap kelompok di hari ke-11, 18 dan 25. Sampel darah diambil dari sinus orbitalis dekstra dengan menggunakan pipet kapiler lalu ditampung dalam wadah kaca yang telah diisi antikoagulan. Sampel tersebut kemudian dibawa ke Laboratorium Kesehatan Daerah Jawa Timur untuk dilakukan pengukuran kadar glukosa dengan menggunakan metode GOD-PAP enzimatis.

4.7.7 Prosedur pemeriksaan kadar glukosa darah

Langkah-langkah pemeriksaan kadar glukosa darah adalah sebagai berikut :

1. 50 µl darah NAF + 500 µl TCA (*Trichloro acetic acid*) dicampur
2. disentrifuge 2500 rpm selama 5 menit
3. diambil 100 µl supernatan, kemudian ditambah 0,25 ml pereaksi glukosa dan 0,25 ml aquadest, lalu dicampur
4. diinkubasi pada suhu kamar 15 menit

5. dibaca pada fotometer 4010 pada panjang gelombang 546 nm, faktor 100, program C/ St dengan blanko aquadest
6. untuk standart glukosa diambil 10 μ l ditambah 0,25 ml perekasi glukosa dan 0,25 ml aquadest, diinkubasi suhu kamar 15 menit, kemudian dibaca.



Gambar 4.1 Skema alur kerja penelitian

4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program SPSS for *Windows XP* yang meliputi analisis statistik sebagai berikut :

1. **Uji statistik deskriptif** untuk mengetahui karakteristik data hasil pengukuran variabel sebelum dan setelah perlakuan.
2. **Uji homogenitas pra perlakuan** untuk mengetahui perbedaan karakteristik dari sampel yang akan diberikan perlakuan dan memastikan bahwa kondisi sebelum perlakuan diberikan adalah homogen.
3. **Uji normalitas distribusi** untuk mengetahui apakah distribusi data yang diperoleh tidak berbeda dengan distribusi data normal. Uji normalitas dilakukan dengan metode non parametrik (*Uji Kolmogorov-Smirnov*). Pengujian ini perlu dilakukan untuk memenuhi prasyarat uji lanjutan yang digunakan menggunakan analisis parametrik atau non parametrik.
4. **Uji anova sama subyek** untuk menganalisis perbandingan hasil pengukuran satu variabel dari satu kelompok yang dilakukan secara serial (*time series*).
5. **LSD** sebagai uji lanjutan anova untuk melihat hasil pengukuran variabel dari periode waktu mana yang berbeda dan melihat hasil pengukuran variabel dari kelompok mana yang berbeda.
6. **Uji t bebas** untuk membandingkan respon perubahan kadar glukosa darah puasa antara kedua kelompok perlakuan dalam periode waktu pengamatan yang sama.

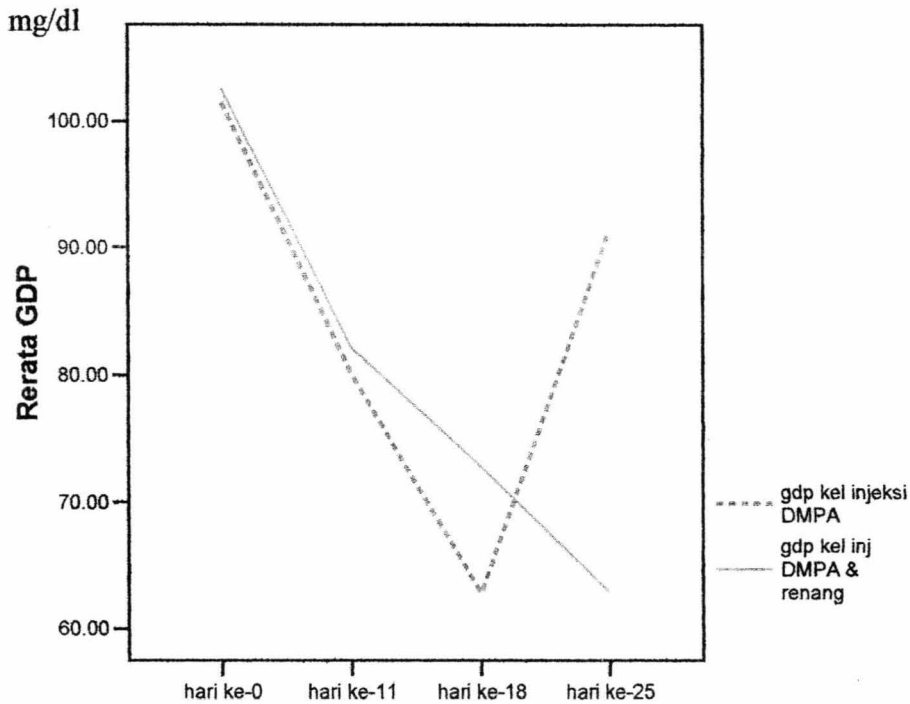
BAB 5**ANALISIS HASIL PENELITIAN****5.1 Deskripsi Data Pengamatan Kadar Glukosa Darah Puasa**

Hasil pengukuran berat badan dan kadar glukosa darah puasa pra perlakuan pada kedua kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Varian mewakili kondisi homogen sebelum perlakuan diberikan pada. Deskripsi hasil pengukuran berat badan dan kadar glukosa darah puasa dapat dilihat pada Tabel 5.1, sedangkan hasil uji homogenitas dapat dilihat pada lampiran.

Tabel 5.1 Berat badan dan kadar glukosa darah puasa sebelum perlakuan

	Kelompok	
	(P1) injeksi DMPA	(P2) Renang + iinjeksi DMPA
Berat badan (gram)	109.94±0.85	110.56±0.96
Kadar glukosa darah puasa (mg/dl)	101.50±5.53	102.63±5.67

Pengukuran kadar GDP kedua kelompok lebih lanjut dilakukan secara *time series* pada hari ke-11,18 dan 25 perlakuan. Grafik perubahan kadar GDP selama penelitian berlangsung dapat dilihat pada Gambar 5.1



Gambar 5.1 Kadar glukosa darah puasa (GDP)

Data hasil pengukuran GDP pada kedua kelompok tidak berbeda secara bermakna dengan distribusi data normal. Hasil uji normalitas data dapat dilihat di lampiran.

Kadar GDP mengalami penurunan hingga hari ke-18 perlakuan pada kedua kelompok. Kecenderungan penurunan kadar GDP mengalami titik balik setelah hari ke-18 pada kelompok yang hanya mendapatkan injeksi DMPA (P1), namun tidak ditemukan pada kelompok yang mendapatkan latihan renang dan injeksi DMPA (P2).

5.2 Analisis Data Kadar Glukosa Darah Setelah Perlakuan

Perbedaan kadar GDP ditemukan pada tiap periode pengukuran dari hari ke-0 hingga hari ke-25 perlakuan ($p=0.00$). Penurunan kadar GDP yang bermakna ditemukan sejak hari ke-0 hingga hari ke-25 perlakuan pada

kelompok tikus yang melakukan latihan renang dan injeksi DMPA (P2). Penurunan juga dijumpai pada kelompok tikus yang hanya mendapatkan injeksi DMPA, namun setelah hari ke-18 terjadi perubahan dimana kadar GDP mengalami peningkatan yang bermakna ($p=0.00$). Hasil perbandingan kadar glukosa GDP antar periode pengukuran pada kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 5.2.

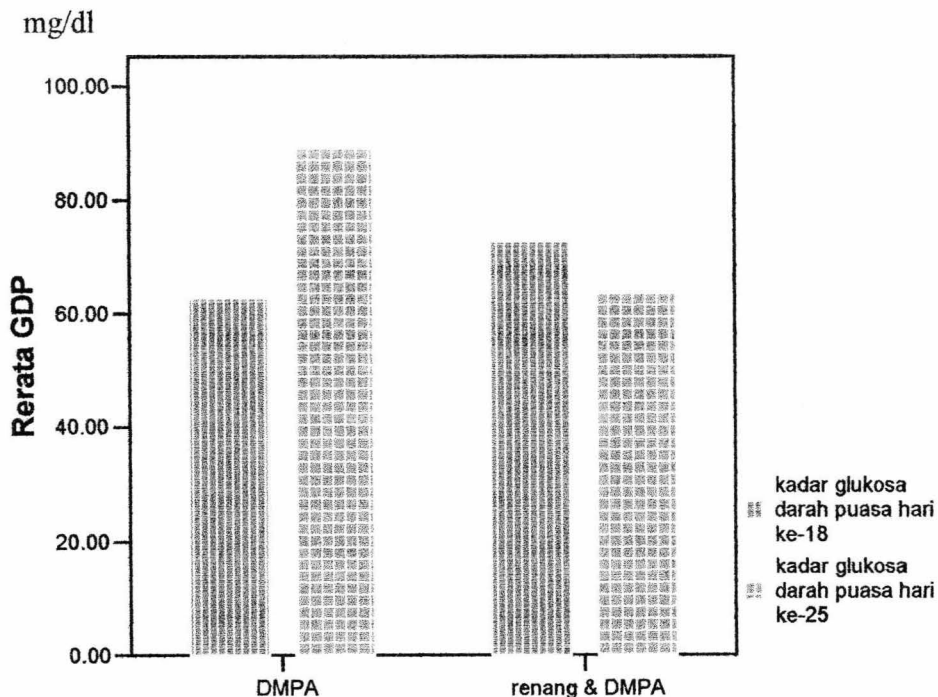
Tabel 5.2 Analisis data kadar GDP antar periode pengamatan

	Rerata \pm SD kadar GDP pada periode pengamatan (mg/dl)				Nilai p
	Hari ke-0	Hari ke-11	Hari ke-18	Hari ke-25	
P1 (injeksi DMPA)	101.50 \pm 5.53	80.13 \pm 5.18	62.81 \pm 6.44	89.25 \pm 13.83	0.00
P2 (renang + injeksi DMPA)	102.63 \pm 5.67	82.19 \pm 5.44	72.88 \pm 5.06	63.94 \pm 6.40	0.00

Tabel. 5.3 Uji t bebas terhadap respon perubahan kadar GDP

	Respon perubahan kadar GDP (mg/dl)		Nilai p
	P1 (injeksi DMPA)	P2 (renang + inj DMPA)	
Hari ke-0 s/d 11	-21.38 \pm 5.11	-20.47 \pm 4.93	0.601
Hari ke-11 s/d 18	-17.31 \pm 8.44	-9.31 \pm 4.38	0.002

Perubahan kadar glukosa darah puasa sejak hari ke-0 hingga hari ke-11 perlakuan tidak berbeda bermakna pada kedua kelompok perlakuan ($p=0,601$). Perbedaan yang bermakna antara dua kelompok perlakuan mulai nampak setelah hari ke-11. Respon penurunan kadar GDP kelompok tikus P1 lebih besar dibandingkan dengan kelompok tikus P2 sejak hari ke-11 sampai dengan ke-18. Respon perubahan kadar GDP tampak berbeda setelah hari ke-18, kelompok tikus P2 tetap mengalami penurunan, sedangkan kelompok tikus P1 mengalami peningkatan (*turning point*). Latihan renang dengan intensitas 50% dari kapasitas maksimal dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perubahan kadar GDP tikus yang mendapatkan injeksi DMPA. Ilustrasi perbedaan respon perubahan kadar glukosa darah pada kedua kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.2 dan analisis uji t terhadap perbedaan tersebut dapat dilihat pada tabel 5.3.



Gambar 5.2 Perbandingan kadar GDP kedua kelompok hari ke-18 dan 25

BAB 6**PEMBAHASAN****6.1 Pengaruh Injeksi DMPA Terhadap Perubahan Kadar Glukosa Darah**

Injeksi 20 mg depo *medroxyprogesterone acetate* (DMPA) tiap minggu selama 25 hari pada tikus menyebabkan perubahan kadar glukosa darah secara serial. Perubahan kadar glukosa darah akibat injeksi DMPA memiliki pola yang sama dengan perubahan kadar glukosa darah pada model kehamilan tikus (*pseudo pregnancy progesterone induced rats*). Peningkatan kadar glukosa darah pada model kehamilan tikus ditemukan saat kadar progesteron mencapai puncak, sedangkan peningkatan kadar glukosa darah akibat injeksi 20 mg DMPA ditemukan setelah hari ke-18 perlakuan. Peningkatan kadar glukosa darah yang ditemukan setelah hari ke-18 injeksi 20 mg DMPA tiap minggu diasumsikan terjadi akibat paparan kronis progesteron plasma (Gonzalez *et al.*, 2000; Xiang, 2005)

Pengaruh progesteron terhadap kadar glukosa darah bergantung pada kadar di dalam darah dan periode paparan. Injeksi 20 mg DMPA menyebabkan penurunan kadar glukosa darah sejak hari ke-11 hingga hari ke-18 perlakuan. Pengaruh serupa juga didapatkan pada injeksi progesteron sub kutan pada tikus betina selama 6-11 hari. Pengaruh akut progesteron meningkatkan ambilan glukosa jaringan (otot, hati dan lemak), bahkan pemberian progesteron selama 11 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah model tikus DMT2 (Santoso, 2005; Ordoñez *et al.*, 2006)..

Peningkatan ambilan glukosa bukan disebabkan oleh peningkatan respon jaringan (otot, hati dan lemak) terhadap insulin, namun diduga terkait dengan peningkatan kadar insulin plasma secara serial (Gonzalez *et al.*, 2000; Ordoñez *et al.*, 2006). Penelitian lain membuktikan bahwa peningkatan kadar progesteron meningkatkan perangsangan terhadap *progesteron receptor* (PR) pada sel beta pankreas. Apoptosis dihambat dan sel beta masuk ke dalam fase proliferasi. Proliferasi menyebabkan peningkatan ukuran dan jumlah sel beta menjadi dua kali dari semula (Quirk, 2004).

Fenomena peningkatan insulin plasma akibat perangsangan yang berulang kali pada PR didekati dari mekanisme *down regulation*. Picard *et al.*, (2002) menyatakan bahwa *down regulation* menyebabkan penurunan jumlah PR dan memicu respon proliferasi sel beta pankreas.

Kecenderungan penurunan kadar glukosa darah mengalami titik balik (*turning point*) setelah hari ke-18 injeksi DMPA. Kadar glukosa darah mengalami kecenderungan meningkat. Peningkatan serupa juga didapatkan pada saat kadar puncak progesteron plasma tercapai semasa kehamilan. Tes toleransi glukosa (GTT) pada saat *turning point* terjadi menunjukkan tikus mengalami intoleransi terhadap glukosa (IGT) (Purwanto, 2006).

Peningkatan kadar glukosa darah terjadi akibat gangguan ambilan glukosa jaringan (otot, hati dan lemak). *Insulin receptor substrat-1* (IRS-1) ditemukan mengalami degradasi pada saat kadar glukosa darah meningkat. IRS-1 mengalami fosforilasi oleh *Phospatydilinositol 3 kinase* (PI-3 kinase) pada kaki serine sehingga menjadi inaktif. Translokasi GLUT4 menuju

membran menjadi terhambat dan mekanisme ambilan glukosa otot yang diperantarai insulin tidak berjalan (Vaßen, 1999; Shao *et al.*, 2002; Mullanyl, 2004). Gangguan ambilan glukosa dibuktikan dengan penurunan ekspresi *Glucose transporter 4* (GLUT 4) pada membran sel otot sartorius tikus putih betina (Shao *et al.*, 2002; Picard *et al.*, 2002).

Kecenderungan peningkatan kadar glukosa darah dipertahankan hingga hari ke-25 perlakuan. Respon peningkatan kadar glukosa darah semakin lama makin meningkat sehingga dikhawatirkan suatu saat dapat melampaui kadar glukosa darah pra perlakuan. Penelitian lain menyebutkan bahwa model tikus DMT2 dapat diperoleh dengan menginjeksi 20 mg DMPA selama 12 minggu (Roveri, 2001; Purwanto, 2006).

6.2 Pengaruh Latihan Fisik Terhadap Perubahan Kadar Glukosa Darah Akibat Injeksi DMPA

Latihan fisik berupa renang dengan intensitas 50 % dari kapasitas maksimal memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perubahan kadar glukosa darah pada tikus yang mendapatkan injeksi DMPA. Latihan fisik menyebabkan kadar glukosa darah tikus tetap mengalami penurunan yang bermakna dan terhindar dari fenomena titik balik (*turning point*) setelah hari ke-18 perlakuan..

Pengaruh latihan fisik terhadap kadar glukosa darah tikus yang diinjeksi DMPA belum nampak hingga hari ke-11 perlakuan. Perbedaan perubahan kadar glukosa darah mulai nampak setelah hari ke-11. Penurunan

kadar glukosa darah lebih lambat terjadi pada tikus yang melakukan latihan fisik.

Kontraksi otot rangka pada latihan fisik menyebabkan peningkatan aktifitas ambilan glukosa otot tanpa dipengaruhi oleh keberadaan insulin. Aktifitas fisik dalam berbagai intensitas tidak mempengaruhi sekresi dan kadar insulin plasma. Otot memaksimalkan peran Ca^{2+} dan AMPK dalam memicu peningkatan ambilan glukosa, sedangkan peran insulin menjadi kurang dominan (Peres *et al.*, 2005; Jessen, 2005). Peningkatan sekresi insulin yang terjadi akibat injeksi DMPA tidak berpengaruh terhadap ambilan glukosa otot selama kontraksi berlangsung.

Latihan fisik menurunkan dominasi peran insulin dalam aktifitas ambilan glukosa, namun latihan fisik justru meningkatkan ekspresi dari protein yang menjadi *downstream* dari jalur perangsangan insulin. Ekspresi akt dan GSK-3 ditemukan meningkat saat aktifitas fisik berlangsung (Peres *et al.*, 2005). Latihan fisik juga memicu peningkatan ekspresi MEF2, faktor pemicu transkripsi protein GLUT 4 (Fueger *et al.*, 2004). Fenomena tersebut menunjukkan bahwa jaringan menjadi lebih sensitif dan siap menerima rangsangan insulin pada fase pemulihan.

Penurunan dominasi insulin dalam aktifitas ambilan glukosa otot diduga memberikan umpan balik negatif pada sekresi insulin dari sel beta pankreas. Perangsangan terhadap sel beta berkurang, sehingga prolifreasi yang memicu peningkatan jumlah dan ukuran sel beta juga tidak terjadi. Pengamatan serial terhadap kadar insulin plasma dan pengukuran besar serta

jumlah sel beta secara imunohistokimia dapat memberikan informasi lebih lanjut tentang fenomena tersebut.

Perubahan kecenderungan kadar glukosa darah yang ditandai dengan titik balik (*turning point*) setelah hari ke-18 injeksi DMPA tidak ditemukan pada tikus yang melakukan latihan fisik. Gangguan ambilan glukosa akibat peningkatan kadar progesteron plasma tidak ditemukan hingga akhir perlakuan. Disfosforilasi IP-3 kinase yang menyebabkan IRS-1 mengalami degradasi ditemukan pada otot yang memperoleh injeksi DMPA, namun fenomena tersebut belum dapat ditemukan pada tikus yang melakukan latihan fisik.

Pendapat lain menyatakan bahwa latihan fisik hanya mampu memperlambat mekanisme resistensi otot terhadap insulin. Titik balik (*turning point*) pasti akan terjadi meskipun tidak dijumpai hingga akhir perlakuan. Tes toleransi glukosa (GTT) pada akhir minggu ke-12 injeksi DMPA tidak menemukan perbedaan dengan tikus yang melakukan latihan renang. Kedua kelompok baik tikus yang melakukan latihan dan tidak melakukan latihan tetap mengalami intoleransi glukosa di akhir minggu ke-12 injeksi DMPA. Fenomena tersebut dapat memberikan informasi berbeda bila intensitas latihan ditingkatkan (Purwanto, 2006).

Latihan fisik memberikan kontribusi positif terhadap regulasi kadar glukosa darah tikus yang memperoleh injeksi DMPA. Penurunan dominasi perangsangan insulin pada aktifitas ambilan glukosa otot merupakan kunci dari pencegahan peningkatan kadar glukosa darah. Penurunan dominasi

insulin diikuti oleh beberapa fenomena lain yang diduga saling terkait, antara lain :

1. umpan balik terhadap perangsangan sekresi insulin dari sel beta pankreas,
2. peningkatan aktifitas CaMKII dan AMPK dalam memicu ambilan glukosa,
3. peningkatan sensitifitas otot terhadap insulin yang ditandai dengan peningkatan ekspresi dari akt dan GSK-3.

6.3 Perbedaan Respon Kadar Glukosa Darah dan Periode Paparan Antar Kelompok Perlakuan

Perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap respon kadar glukosa darah pada tiap periode paparan. Respon perubahan kadar glukosa darah pada kelompok P1 menjadi acuan terhadap pengaruh pemberian latihan fisik pada kelompok P2. Respon perubahan kadar glukosa darah akibat pengaruh paparan progesteron (P1) ditemukan tidak berbeda dengan penelitian pendahuluan dan penelitian lain yang serupa (Santoso, 2005; Ordonez, 2006).

Respon perubahan kadar glukosa darah kelompok P2 tidak menunjukkan beda yang bermakna dengan kelompok P1 hingga hari ke-11 injeksi DMPA, walaupun posisi kadar glukosa darah kelompok P2 selalu berada lebih tinggi dari kelompok P1. Penurunan kadar glukosa darah hingga hari ke-11 merupakan akibat dari paparan akut progesteron pada sel beta pankreas sehingga sekresi insulin meningkat. Peningkatan kadar insulin darah memicu

peningkatan ambilan glukosa pada sel otot, lemak dan hati (Picard *et al.*, 2002; Ordonez, 2006).

Peningkatan paparan insulin tidak berpengaruh bermakna pada tikus yang melakukan latihan fisik. Latihan fisik menghambat jalur ambilan glukosa yang dipicu oleh insulin dan mengoptimalkan ambilan glukosa melalui jalur alternatif. Peningkatan Ca^{2+} dan kadar AMPK intraseluler selama kontraksi otot rangka berlangsung mendorong translokasi GLUT 4 menuju sarcolemma. Pergeseran dominasi jalur ambilan glukosa tidak menyebabkan penurunan sensitifitas jaringan terhadap insulin karena selama kontraksi berlangsung sintesis MEF2 dan GSK3 (*downstream insulin pathways*) meningkat. Insulin kembali dapat merangsang ambilan glukosa pada fase pemulihan setelah latihan fisik (Ishiki, 2005; Jorgensen, 2006)

Pengaruh akut latihan fisik tidak dapat segera terlihat karena pergeseran dominasi ambilan glukosa terjadi di tingkat seluler sedangkan pengamatan dilakukan pada kadar glukosa darah. Perbedaan respon perubahan kadar glukosa darah baru nampak bermakna setelah hari ke-11 perlakuan. Penurunan kadar glukosa darah tikus yang melakukan latihan fisik semakin melambat. Otot yang terlatih menghambat jalur perangsangan insulin dan lebih memanfaatkan lemak untuk memperoleh ATP, sedangkan ambilan glukosa dioptimalkan dari jalur alternatif Ca^{2+} dan AMPK.

Respon kadar glukosa darah tikus yang hanya mendapatkan injeksi DMPA mengalami titik balik (*turning point*) setelah hari ke-18. Kecenderungan penurunan kadar glukosa darah sejak awal perlakuan berubah mengalami peningkatan yang bermakna. Titik balik tersebut menandai pengaruh paparan

kronis progesteron berlangsung. Beberapa fenomena yang telah mampu diidentifikasi terjadi akibat paparan kronis progesteron antara lain:

1. redistribusi dari IP-3 kinase, disfungsi hingga degradasi IRS-1 yang menyebabkan hambatan jalur *signalling* insulin sehingga insulin tidak mampu memicu ambilan glukosa otot (Shao *et al.*, 2002)
2. paparan yang terus menerus terhadap reseptor progesteron sel beta pankreas menyebabkan peningkatan sekresi insulin yang tidak diimbangi dengan peningkatan sensitifitas insulin pada sel otot, hati dan lemak. Sel beta menjadi *fatigue* dan mengalami apoptosis secara perlahan.

Perubahan yang terjadi akibat paparan kronis progesteron diyakini sebagai kondisi yang permanen dan mempercepat perkembangan intoleransi glukosa semasa kehamilan menjadi diabetes yang menetap. Penelitian lain mencatat kecenderungan peningkatan kadar glukosa darah dipertahankan lebih dari 12 minggu paparan (Picard *et al.*, 2002; Shao *et al.*, 2002)

Hasil pengamatan pada kelompok P2 menunjukkan bahwa titik balik tidak ditemukan pada tikus yang terlatih. Kecenderungan glukosa darah tetap mengalami penurunan dengan kecepatan yang konstan. Temuan ini memberikan harapan bahwa latihan fisik minimal dapat menghambat pengaruh paparan kronis progesteron yang ditandai dengan titik balik respon perubahan kadar glukosa darah. Pengamatan yang terbatas hingga hari ke-25 merupakan kendala tersendiri untuk mengungkap lebih jauh tentang pengaruh latihan fisik terhadap perubahan kadar glukosa pada individu yang terpapar progesteron. Perubahan kadar glukosa setelah hari ke-25 pada tikus yang terlatih dan mendapat paparan progesteron masih menjadi misteri yang perlu diungkap.

6.4 Latihan Fisik dan Upaya Pencegahan Intoleransi Glukosa Semasa Kehamilan

Intoleransi glukosa yang terjadi pada kehamilan berkorelasi dengan peningkatan kadar progesteron plasma. Paparan kronis terhadap peningkatan kadar progesteron menyebabkan gangguan ambilan glukosa yang bersifat permanen dan ditandai dengan degradasi IRS-1 pada sel otot rangka. Keberadaan insulin tidak mampu memicu aktifitas ambilan glukosa sehingga otot rangka menjadi resisten dan kadar glukosa darah cenderung meningkat.

Pencegahan intoleransi glukosa pada kehamilan merupakan bagian dari upaya pencegahan primer DMT2 yang meliputi pemberian insulin, obat anti diabetes (OAD), pengaturan pola makan (diet) dan latihan fisik. Latihan fisik berupa olahraga sendiri memiliki efektifitas pencegahan lebih tinggi dibandingkan dengan diet atau kombinasi diet dan olahraga (Pan *et al.*, 1997).

Intensitas latihan fisik yang direkomendasikan dalam upaya pencegahan primer intoleransi glukosa berkisar antara 50 – 70 % dari kapasitas maksimal. Respon endokrin menjadi salah satu dasar penentuan besar intensitas latihan. Peningkatan hormon kortisol dan glukagon didapatkan pada intensitas latihan yang lebih tinggi sehingga dikhawatirkan justru dapat meningkatkan kadar glukosa darah (Robergs, 2003; Sigal, 2004)

Keterbatasan aktifitas fisik menjadi kendala tersendiri bagi ibu hamil. Aktifitas fisik dengan intensitas berat dikhawatirkan dapat berdampak buruk pada kehamilan dan perkembangan janin.

Batas minimal intensitas 50 % latihan fisik yang direkomendasikan dapat mencegah peningkatan kadar glukosa darah dengan mengurangi

dominasi peran insulin yang meningkat akibat paparan kronis progesteron. Intensitas latihan yang lebih tinggi diduga mampu menghambat progresifitas IGT menjadi DMT2 dan dapat mencegah degradasi IRS-1 yang menjadi penyebab utama gangguan ambilan glukosa pada otot rangka. Latihan fisik dengan intensitas 50 % diharapkan dapat diaplikasikan pada upaya pencegahan intoleransi glukosa semasa kehamilan dan menghambat perkembangan GDM menjadi DMT2 pasca persalinan dengan dampak negatif yang minimal bagi kehamilan dan perkembangan janin.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

Latihan fisik dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah tikus setelah hari ke-18 injeksi 20 mg DMPA tiap minggu secara intramuskular.

7.2 Saran

Saran yang diajukan untuk melengkapi informasi penelitian ini adalah mengadakan penelitian lanjutan untuk mengamati :

1. Pengaruh latihan fisik terhadap perubahan imunohistokimia dari jaringan otot, pankreas, hati dan lemak yang terpapar DMPA secara kronis sehingga dapat melengkapi dan bersifat verifikasi terhadap mekanisme pencegahan GDM.
2. Pengaruh berbagai intensitas latihan fisik dalam rangka mencari dosis olahraga yang tepat untuk mencegah DMT2 akibat paparan kronis progesteron.

DAFTAR PUSTAKA

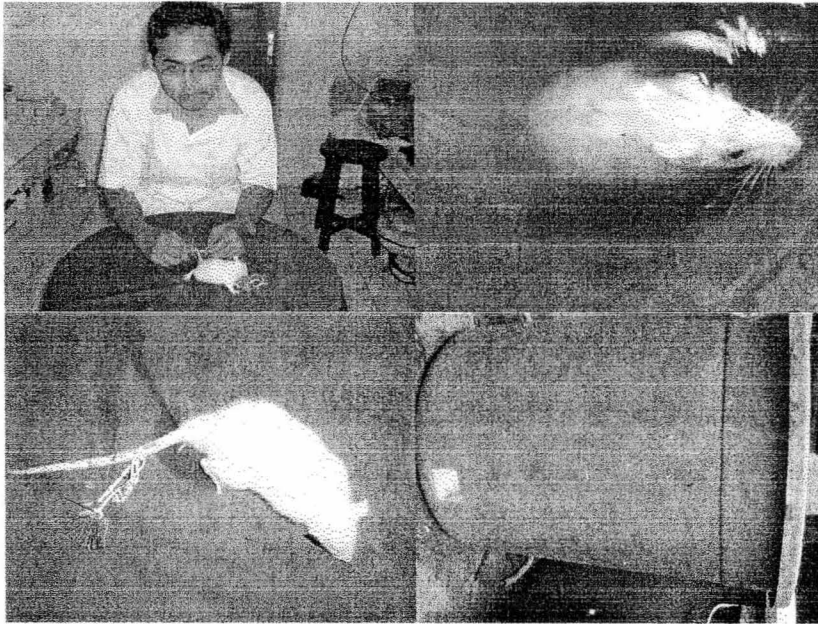
- ADA. 2007. *Clinical Practice Recommendation 2007*. Diabetes Care 30: Suppl 1): S4-S1
- Campbell S. E. and Febbraio M. A. 2002. *Effect of the ovarian hormones on GLUT4 expression and contraction-stimulated glucose uptake*. Am J Physiol Endocrinol Metab 282: E1139–E1146
- D'eon TM *et al.*, 2002. *Regulation of exercise carbohydrate metabolism by estrogen and progesterone in women*. Am J Physiol Endocrinol Metab 283: E1046-1055
- Dohm L. 2002. *Exercise Effects on Muscle Insulin Signaling and Action: Invited Review: Regulation of skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise*. J Appl Physiol 93:782-787.
- Fox E *et al.*, 1993. *The Physiological Basis for Exercise and Sport*. WCB. Brown and Benchmark. Inc.
- Fueger T *et al.*, 2004. *Control of Exercise-stimulated Muscle Glucose Uptake by GLUT4 is Dependent on Glucose Phosphorylation Capacity in the Conscious Mouse*. The Journal of Biological Chemistry 279(49): 50956-50961
- González C *et al.*, 2000. *Role of 17 β estradiol and/or progesterone on insulin sensitivity in the rat: implications during pregnancy*. Journal of Endocrinology 166, 283–291.
- Hanafiah KA, 2003. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Palembang. Penerbit PT Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Hardie D G. 2004. *The AMP-activated protein kinase pathway – new players upstream and downstream*. Journal of Cell Science 117, 5479-5487.
- IDF. 2003. *Cost Effective Approaches to Diabetes Care and Prevention*.
- Ishiki M and Klip A, 2005. *Minireview: Recent Developments in the Regulation of Glucose Transporter-4 Traffic: New Signals, Locations, and Partners*. Endocrinology 146(12):5071–5078
- Jessen N and Goodyear L, 2005. *Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle*. J Appl Physiol 99:330-337.

- Jorgensen SB, Richter EA, and Wojtaszewski JFP, 2006. *Role of AMPK in skeletal muscle metabolic regulation and adaptation in relation to exercise*. *J of Physiol* 574(1): 17-31
- Kawanaka K *et al.*, 1997. *Effects of high intensity intermittent swimming on glucose transport in rat epitochlearis muscle*. *J. Appl. Physiol* 83: 429-433
- Mahrieb, 2006. *Human Anatomy and Physiology* 7th ed. Lange. USA.
- Mullany1 L K. and Lange C A, 2004. *Phosphorylation of Progesterone Receptor Serine 400 Mediates Ligand-Independent Transcriptional Activity in Response to Activation of Cyclin-Dependent Protein Kinase 2*. *Molecular and Cellular Biology* vol. 24, no. 24p. 10542–10557
- Ordoñez P *et al.*, 2006. *Insulin Sensitivity in Streptozotocin Induced-Diabetic Rats Treated With Different Doses Of 17β-Estradiol or Progesterone*. *Neuroendocrinology/Endocrinology* 270.
- Pan XR, Li GW *et al.*, 1997. *Effect of Diet and Exercise in Preventing NIDDM in People with Impaired Glucose Tolerance. The DaQing Study*. *Diabetes Care* 20 : 537-544
- Peres *et al.*, 2005. *Endurance exercise training increases insulin responsiveness in isolated adipocytes through IRS/PI3-kinase/Akt pathway*. *J Appl Physiol* 98: 1037–1043
- Program Pascasarjana Unair, 2004. *Pedoman Penulisan Tesis dan Desertasi*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Picard F *et al.*, 2002. *Progesterone receptor knockout mice have an improved glucose homeostasis secondary to β cell proliferation*. *PNAS* 99: 24.15644–15648.
- Purwanto B, Herawati L dan Harjanto JM, 2006. *Pengaruh Latihan Fisik Intensitas Ringan Terhadap Intoleransi Glukosa Akibat Injeksi Depo Progestin Jangka Panjang*. Medical Research Unit FK Unair.
- Quirk S M, Robert G C, and. Harman RM. 2004. *Progesterone Receptor and the Cell Cycle Modulate Apoptosis in Granulosa Cells*. *Endocrinology* 145: 5033–5043.
- Richter AE and Rose AJ, 2005. *Skeletal Muscle Glucose Uptake During Exercise: How is it Regulated?* *Physiology* 20: 260–270.
- Robergs AR and Keteyian S, 2003. *Fundamentals of Exercise Physiology: for Fitness, Performance and Health*. 2nd Ed. Mc Graw Hill Comp. USA

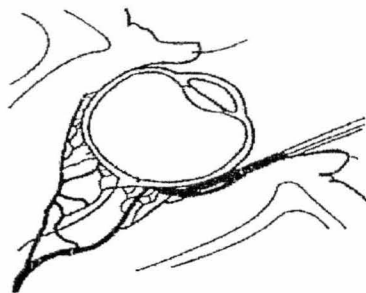
- Roveri EA *et al.*, 2000. *Effects Of Depot Medroxyprogesteron acetate On The Metabolism Of Adult Ovariectomized Rats*. *Medicina*: 60: 482-486
- Saltiel and Kahn, 2001. *Mechanism of Insulin Action*. *Nature*: 414. 799-806
- Santoso KP dan Purwanto B, 2005. Pengaruh Injeksi Depo Progestin Terhadap Peningkatan Kadar Glukosa Darah Tikus Secara Serial. LPPM Unair.
- Shao J, Qiao L, and Friedman JE, 2003. *Prolactin, progesterone, and dexamethasone coordinately and adversely regulate glucokinase and cAMP/PDE cascades in MIN6 β cells*. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286: E304–E310.
- Shao J *et al.*, 2002. *Phosphatidylinositol 3-Kinase Redistribution is Associated With Skeletal Insulin Resistance in Gestational Diabetes Melitus*. *Diabetes* 51 :19-29
- Sigal RJ *et al.*, 2004. *Physical Activity/Exercise and Type 2 Diabetes*. *Diabetes Care* 27 (10): 2518- 2539.
- Tatsuya H *et al.*, 1997. *Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle*. *Am. J. Physiol.* 273 (Endocrinol. Metab. 36): E1039–E1051
- Tracy L *et al.*, 2005. *Gestational Diabetes Mellitus*. *Clinical Diabetes* 23 : 17-22
- Vaßen L, Wegrzyn W and Hitpass L, 1999. *Human Insulin Receptor Substrate-2 (IRS-2) Is a Primary Progesterone Response Gene*. *Molecular Endocrinology* 13: 485–494.
- Watson and Pessin J. 2001. *Intracellular Organization of Insulin Signaling and GLUT4 Translocation*. *Endojournals.org*
- Wild S *et al.*, 2004. *Global Prevalence of Diabetes; estimates for 2000 and projection for 2030*. *Diabetes Care* 27 : 1047-1053
- Xiang A.H and Buchanan T A, 2005. *Gestational diabetes mellitus* J. *Clin.Invest.* 115:485–491.

Lampiran I

Foto dan Gambar Penelitian



Gambar 5.7. Cara pengambilan darah pada tikus.



Gambar 5.8 Skema anatomis pengambilan darah pada tikus.

Lampiran 2 (Hasil Analisis Statistik)

Tabel Pengamatan berat badan dan GDP

KEL		BB1	GDP1	BB2	GDP2	BB3	GDP3	BB4	GDP4	Rmax
INJ DMPA	1	111.00	106.00	136.00	81.00	136.00	73.00	145.00	113.00	
	2	110.00	104.00	117.00	77.00	126.00	70.00	135.00	111.00	
	3	109.00	107.00	135.00	86.00	144.00	66.00	154.00	104.00	
	4	109.00	102.00	113.00	84.00	113.00	68.00	120.00	102.00	
	5	110.00	98.00	127.00	68.00	136.00	63.00	141.00	93.00	
	6	109.00	95.00	116.00	73.00	125.00	55.00	123.00	95.00	
	7	109.00	94.00	120.00	84.00	134.00	59.00	145.00	81.00	
	8	111.00	107.00	145.00	88.00	153.00	57.00	162.00	91.00	
	9	110.00	112.00	125.00	81.00	131.00	63.00	135.00	81.00	
	10	110.00	104.00	120.00	84.00	130.00	63.00	140.00	77.00	
	11	112.00	105.00	150.00	82.00	155.00	54.00	169.00	84.00	
	12	110.00	101.00	140.00	81.00	151.00	50.00	169.00	86.00	
	13	110.00	94.00	130.00	76.00	135.00	66.00	143.00	72.00	
	14	109.00	93.00	116.00	75.00	121.00	63.00	123.00	92.00	
	15	110.00	100.00	130.00	80.00	130.00	71.00	135.00	84.00	
	16	110.00	102.00	136.00	82.00	144.00	64.00	155.00	62.00	
INJ DMPA + LAT FISIK	1	111.00	106.00	140.00	79.00	148.00	73.00	160.00	63.00	56.00
	2	110.00	102.00	116.00	81.00	123.00	73.00	130.00	63.00	57.00
	3	111.00	98.00	141.00	77.00	145.00	66.00	160.00	64.00	57.00
	4	112.00	94.00	161.00	70.00	168.00	68.00	182.00	61.00	58.00
	5	109.00	105.00	145.00	81.00	135.00	66.00	169.00	59.00	60.00
	6	109.00	104.00	125.00	81.00	121.00	72.00	169.00	55.00	62.00
	7	111.00	110.00	120.00	81.00	130.00	75.00	143.00	63.00	64.00
	8	110.00	106.00	150.00	86.00	144.00	65.00	123.00	48.00	55.00
	9	110.00	110.00	136.00	91.00	113.00	81.00	140.00	68.00	58.00
	10	111.00	96.00	140.00	82.00	136.00	77.00	143.00	68.00	57.00
	11	110.00	102.00	116.00	80.00	125.00	73.00	123.00	70.00	60.00
	12	111.00	107.00	141.00	83.00	134.00	72.00	135.00	66.00	64.00

	13	112.00	101.00	140.00	85.00	151.00	75.00	155.00	63.00	55.00
	14	110.00	99.00	130.00	88.00	135.00	80.00	164.00	72.00	58.00
	15	110.00	110.00	116.00	92.00	121.00	80.00	162.00	74.00	55.00
	16	112.00	92.00	130.00	78.00	130.00	70.00	154.00	66.00	58.00

BB = berat badan (gram)

GDP = kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dl)

Rmax = kapasitas renang maksimal (menit)

1 = pra perlakuan (hari ke-0)

2 = hari ke-11

3 = hari ke-18

4 = hari ke-25

Uji normalitas data (Kolmogorov-smirnov test)

		kadar glukosa darah puasa hari ke-0	kadar glukosa darah puasa hari ke-11	kadar glukosa darah puasa hari ke-18	kadar glukosa darah puasa hari ke-25
N		32	32	32	32
Parameter Normal (a,b)	Rerata	102.0625	81.1563	67.8438	76.5938
	Simpang baku	5.53544	5.32862	7.65426	16.66338
Beda paling ekstrim	Absolut	.106	.145	.107	.140
	Positif	.086	.093	.064	.140
	Negatif	-.106	-.145	-.107	-.083
Kolmogorov-Smirnov Z		.597	.818	.606	.791
kebermaknaan (2-arah)		.868	.516	.856	.559

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
gdp kel injeksi DMPA	hari ke-0	16	101.5000	5.52570	1.38142	98.5556	104.4444	93.00	112.00
	hari ke-11	16	80.1250	5.17526	1.29382	77.3673	82.8827	68.00	88.00
	hari ke-18	16	62.8125	6.44173	1.61043	59.3799	66.2451	50.00	73.00
	hari ke-25	16	89.2500	13.82510	3.45627	81.8831	96.6169	62.00	113.00
	Total	64	83.4219	16.47105	2.05888	79.3075	87.5362	50.00	113.00
gdp kel inj DMPA & renang	hari ke-0	16	102.6250	5.66716	1.41679	99.6052	105.6448	92.00	110.00
	hari ke-11	16	82.1875	5.44327	1.36082	79.2870	85.0880	70.00	92.00
	hari ke-18	16	72.8750	5.05800	1.26450	70.1798	75.5702	65.00	81.00
	hari ke-25	16	63.9375	6.40280	1.60070	60.5257	67.3493	48.00	74.00
	Total	64	80.4063	15.49267	1.93658	76.5363	84.2762	48.00	110.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
gdp kel injeksi DMPA	Between Groups	12742.422	3	4247.474	58.597	.000
	Within Groups	4349.188	60	72.486		
	Total	17091.609	63			
gdp kel inj DMPA & renang	Between Groups	13196.563	3	4398.854	137.116	.000
	Within Groups	1924.875	60	32.081		
	Total	15121.438	63			

Multiple Comparisons (LSD)

Dependent Variable	(I) periode pengamatan gdp	(J) periode pengamatan gdp hari ke-	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	97.5% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
gdp kel injeksi DMPA	hari ke-0	hari ke-11	21.37500(*)	3.01012	.000	14.4546	28.2954
		hari ke-18	38.68750(*)	3.01012	.000	31.7671	45.6079
		hari ke-25	12.25000(*)	3.01012	.000	5.3296	19.1704
	hari ke-11	hari ke-0	-21.37500(*)	3.01012	.000	-28.2954	-14.4546
		hari ke-18	17.31250(*)	3.01012	.000	10.3921	24.2329
		hari ke-25	-9.12500(*)	3.01012	.004	-16.0454	-2.2046
	hari ke-18	hari ke-0	-38.68750(*)	3.01012	.000	-45.6079	-31.7671
		hari ke-11	-17.31250(*)	3.01012	.000	-24.2329	-10.3921
		hari ke-25	-26.43750(*)	3.01012	.000	-33.3579	-19.5171
hari ke-25	hari ke-0	-12.25000(*)	3.01012	.000	-19.1704	-5.3296	
	hari ke-11	9.12500(*)	3.01012	.004	2.2046	16.0454	
	hari ke-18	26.43750(*)	3.01012	.000	19.5171	33.3579	
gdp kel inj DMPA & renang	hari ke-0	hari ke-11	20.43750(*)	2.00254	.000	15.8336	25.0414
		hari ke-18	29.75000(*)	2.00254	.000	25.1461	34.3539
		hari ke-25	38.68750(*)	2.00254	.000	34.0836	43.2914
	hari ke-11	hari ke-0	-20.43750(*)	2.00254	.000	-25.0414	-15.8336
		hari ke-18	9.31250(*)	2.00254	.000	4.7086	13.9164
		hari ke-25	18.25000(*)	2.00254	.000	13.6461	22.8539
	hari ke-18	hari ke-0	-29.75000(*)	2.00254	.000	-34.3539	-25.1461
		hari ke-11	-9.31250(*)	2.00254	.000	-13.9164	-4.7086
		hari ke-25	8.93750(*)	2.00254	.000	4.3336	13.5414
hari ke-25	hari ke-0	-38.68750(*)	2.00254	.000	-43.2914	-34.0836	
	hari ke-11	-18.25000(*)	2.00254	.000	-22.8539	-13.6461	
	hari ke-18	-8.93750(*)	2.00254	.000	-13.5414	-4.3336	

* The mean difference is significant at the .025 level.

T-Test

Group Statistics

kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Respon perubahan hari 0-11 DMPA	16	-21.3750	5.1104	1.2776
renang & DMPA	16	-20.4375	4.9257	1.2314
Respon perubahan hari 11-18 DMPA	16	-17.3125	8.4358	2.1089
renang & DMPA	16	-9.3125	4.3775	1.0944

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Respon perubahan hari 0-11	Equal variances assumed	.022	.883	-.528	30	.601	-.9375	1.7745	-4.5614	2.6864
	Equal variances not assumed			-.528	29.959	.601	-.9375	1.7745	-4.5616	2.6866
Respon perubahan hari 11-18	Equal variances assumed	6.931	.013	-3.367	30	.002	-8.0000	2.3760	-12.8524	-3.1476
	Equal variances not assumed			-3.367	22.532	.003	-8.0000	2.3760	-12.9208	-3.0792