

TESIS

**PENGARUH LATIHAN EKSENTRIK TERHADAP EKSPRESI *GLUT-1*
PADA OTOT GASTROCNEMIUS MENCIT DIABETES MELLITUS
YANG DIINDUKSI *STREPTOZOTOCIN***



**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN OLAAHRAGA
JENJANG MAGISTER (S2) FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2013**

TESIS

**PENGARUH LATIHAN EKSENTRIK TERHADAP EKSPRESI *GLUT-1*
PADA OTOT GASTROCNEMIUS MENCIT DIABETES MELLITUS
YANG DIINDUKSI *STREPTOZOTOCIN***



HAVID YUSUF

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN OLAAHRAGA
JENJANG MAGISTER (S2) FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2013**

ii

**PENGARUH LATIHAN EKSENTRIK TERHADAP EKSPRESI *GLUT-1*
PADA OTOT GASTROCNEMIUS MENCIT DIABETES MELLITUS
YANG DIINDUKSI *STREPTOZOTOCIN***

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



HAVID YUSUF
011145003

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN OLAAHRAGA
JENJANG MAGISTER (S2) FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2013

iii

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 30 JULI 2013

Oleh

Pembimbing I

Prof. R. Soedarso Djojonegoro, dr., AIF
NIP. 130078271

Pembimbing II

Tjitra Wardani, dr., MS, AIFO
NIP. 194904231978022001

Mengetahui :

Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Iluk Herawati, dr., M. Kes., AIFO
NIP. 197503142003122001

iv

Telah diuji pada

Tanggal 30 Juli 2013

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Elyana Asnar, dr., MS
Anggota : 1. Prof. R. Soedarso Djojonegoro, dr., AIF
2. Tjitra Wardani, dr., MS, AIFO
3. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si
4. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M. Kes



UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama peneliti panjatkan puji syukur kehadiran Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Kesehatan (M.Kes) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Prof. R. Soedarso Djojonegoro, dr., AIF, selaku Pembimbing I yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran pada peneliti.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya, peneliti ucapkan kepada Tjitra Wardani, dr., MS, AIFO, selaku Pembimbing II yang penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Penyusunan tesis ini tentu saja tidak lepas dari bantuan, arahan, dan bimbingan dari beberapa pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., SpPD.K-EMD.FINASIM, selaku Dekan FK Universitas Airlangga yang telah memberikan perijinan untuk penyelesaian tesis ini.
2. Prof. Dr. Indri Safitri Mukono, dr., MS. selaku Wakil Dekan I FK Universitas Airlangga yang telah memberikan surat keterangan penelitian.
3. Dr. Elyana Asnar, dr., MS, selaku Ketua Departemen Faal dan Lilik Herawati, dr., M. Kes., AIFO, selaku Ketua Program Studi Pascasarjana Ilmu Kesehatan Olahraga

Universitas Airlangga yang telah memberikan proses perijinan dalam penyelesaian penelitian.

4. Prof. M. Sajid Darmadipura, dr., SpS, SpBS, selaku Ketua Komite Penelitian Kesehatan FK Universitas Airlangga yang telah memberikan surat pernyataan kelaikan etik kepada peneliti.
5. Dr. I Ketut Suidana, Drs., M.Si, selaku Ketua Unit Mikroskop Elektron dan Lab. Medis Terpadu Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin kepada peneliti untuk melakukan penelitian di tempat.
6. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M. Kes yang telah membantu untuk membimbing menyelesaikan statistik data penelitian peneliti.
7. dr. Edhi Rianto, MS., selaku Ketua Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin kepada peneliti untuk melakukan penelitian di Lab. Biokimia Hewan Coba.
8. Penguji tesis yaitu Dr. Elyana Asnar, dr., MS., Prof. R. Soedarso Djojonegoro, dr., AIF., Tjitra Wardani, dr., MS, AIFO., Dr. I Ketut Suidana, Drs., M.Si., Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M. Kes.
9. dr. Bambang Purwanto, M.Kes., yang telah membantu untuk membimbing, mendukung, mengarahkan, dan membantu banyak hal dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Bapak Heri, Mas Alfian, Ibu Endah, dan Bapak Bari yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

11. Teman-teman Mahasiswa Pascasarjana Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga Universitas Airlangga Angkatan 2011 yang telah membantu untuk menyemangati dan mendukung peneliti hingga terselesaikannya tesis ini.
12. Bapak dan Ibu Dosen Departemen Faal Universitas Airlangga yang telah mendidik serta memberikan bekal ilmu pengetahuannya kepada peneliti.
13. Karyawan dan karyawan Departemen Faal (Bapak Eko, Bapak Otto, Bapak Katmidi, Mbak Nuri, Mas Arifin, Mbak Mif. dan Mas Taufiq) dan Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (Mas Ragil dan Mbak Puji) yang telah banyak membantu dalam bidang administrasi.
14. Mbak Nayli yang telah membantu peneliti hingga terselesaikannya tesis ini.
15. Bapak, ibu, dan adikku tercinta semua yang telah banyak memberikan dukungan baik moral maupun materil dan tak pernah lelah berdoa untukku.
16. Farah Ulfa Riadina dan segenap keluarganya yang telah banyak mendukung peneliti selama ini.
17. Semua pihak yang tidak dapat peneliti sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan tesis ini.

Semoga segala bantuan yang bapak/ibu dan saudara berikan kepada peneliti, mendapat berkah dan balasan dari Allah SWT. Akhirnya peneliti berharap semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Surabaya, 25 Juli 2013

Peneliti

RINGKASAN

Latihan fisik untuk orang yang menderita DM memiliki peran penting dalam mengendalikan kadar glukosa dalam darah. Kontraksi eksentrik dapat merangsang translokasi dan ekspresi *GLUT-1* pada membran sel, yang memiliki peran sebagai pintu masuk glukosa ke dalam sel. Namun, pengaruh latihan eksentrik untuk meningkatkan ekspresi *GLUT-1* pada membran sel belum diketahui dengan jelas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa latihan eksentrik dapat meningkatkan jumlah ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius tikus diabetes.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Randomize Post Test Only Control Group Design*. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan berumur 8-12 minggu, berat badan antara 25 ± 2 gram. Jumlah total 27 hewan percobaan dibagi secara acak ke dalam 3 kelompok, kelompok kontrol normal (K0), kelompok kontrol diabetes (K1), dan kelompok diabetes dengan perlakuan (K2). K1 dan K2 diinduksi dengan streptozotocin. K0 dan K1 tidak diberi perlakuan. K2 melakukan latihan eksentrik. Latihan dilakukan dengan menggunakan treadmill dengan sudut kemiringan 10 derajat (*running downhill*). Jangka waktu latihan selama 16 menit 30 detik dengan kecepatan 21 cm/detik. Glukosa darah puasa (GDP), glukosa darah *post prandial* (GDPP), dan *GLUT-1* diambil dari masing-masing kelompok percobaan.

Rerata *GLUT-1* K2 ($3,04/\mu\text{m}^2$, $\text{SD}=0,68$) lebih tinggi dibandingkan dengan K1 ($1,88/\mu\text{m}^2$, $\text{SD}=0,20$) ($p=0,001$). Analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan antara *GLUT-1* pada K1 dan K2 ($p=0,001$). Ini merupakan bukti bahwa jumlah ekspresi *GLUT-*

I yang terdapat di membran sel pada latihan eksentrik jauh lebih tinggi dibandingkan tanpa latihan eksentrik. Sebagai kesimpulan, latihan eksentrik dapat meningkatkan ambilan glukosa ke dalam otot sehingga dapat memperbaiki kadar glukosa dalam darah.



SUMMARY

Physical exercise for people who suffer from DM has an important role in controlling blood glucose level in blood. Eccentric muscle contraction can stimulate translocation and the expression of GLUT-1 to cell membrane, which has a role to facilitate the glucose entrance into the cell. However, the influence of eccentric exercise to increase GLUT-1 expression on cell membrane has not been clearly known. The purpose of this research is to prove that eccentric exercise can increase the amount of GLUT-1 expression in the gastrocnemius muscle of diabetic mice.

The research method used is the randomized posttest only control group design. The trial animal used in this research are 8-12 weeks-old male mice, body weight between 25±2 grams. The total amount of 27 trial animals were divided randomly into 3 groups, normal-control group (K0), diabetic-control group (K1), and diabetic-group with treatment (K2). K1 and K2 were induced with *streptozotocin*. K0 and K1 underwent no treatment. K2 underwent eccentric exercise treatment. The exercise was done using a treadmill with a slope angle of -10 degrees (*running downhill*). The time period of exercise was 16 minutes 30 seconds with a speed of 21 cm/second. Fasting blood glucose (GDP), post prandial blood glucose (GDPP), and GLUT-1 were taken from each trial group.

The mean GLUT-1's of K2 ($3.04/\mu\text{m}^2$, SD=0.68) is higher than that of K1 ($1.88/\mu\text{m}^2$, SD=0.20) ($p=0.001$). Analysis shows a significant difference between GLUT-1 of K1 and K2 ($p=0.001$). This is an evidence the amount of GLUT-1 expression on cell

membrane of eccentric exercise are much higher than that without eccentric exercise. In conclusion, eccentric exercise increases glucose uptake in muscles, hence it improves the blood glucose level.



ABSTRACT**Effect of Eccentric Exercise of GLUT-1 Expression
on Diabetic Mice Gastrocnemius Muscle Induced by Streptozotocin****By: Havid Yusuf**

Diabetes Mellitus is a disease with characterized by an increasing glucose level in the blood (hyperglycemia). Physical exercise for people who suffer from DM has an important role in controlling blood glucose level in blood. Eccentric muscle contraction can stimulate translocation and the expression of GLUT-1 to cell membrane, which has a role to facilitate the glucose entrance into the cell. However, the influence of eccentric exercise to increase GLUT-1 expression on cell membrane has not been clearly known. The purpose of this research is to prove that eccentric exercise can increase the amount of GLUT-1 expression in the gastrocnemius muscle of diabetic mice. The research method used is the randomized posttest only control group design. The trial animal used in this research are 8-12 weeks-old male mice, body weight between 25±2 grams. The total amount of 27 trial animals were divided randomly into 3 groups, normal-control group (K0), diabetic-control group (K1), and diabetic-group with treatment (K2). K1 and K2 were induced with *streptozotocin*. K0 and K1 underwent no treatment, K2 underwent eccentric exercise treatment. The exercise was done using a treadmill with a slope angle of -10 degrees (*running downhill*). The time period of exercise was 16 minutes 30 seconds with a speed of 21 cm/second. Fasting blood glucose (GDP), post prandial blood glucose (GDPP), and GLUT-1 were taken from each trial group. The mean GLUT-1's of K2 ($3.04/\mu\text{m}^2$, $\text{SD}=0.68$) is higher than that of K1 ($1.88/\mu\text{m}^2$, $\text{SD}=0.20$) ($p=0.001$). Analysis shows a significant difference between GLUT-1 of K1 and K2 ($p=0.001$). This is an evidence that the amount of GLUT-1 expression on cell membrane of eccentric exercise are much higher than that without eccentric exercise. In conclusion, eccentric exercise increases glucose uptake in muscles, hence it improves the blood glucose level.

Keywords: diabetes mellitus, eccentric exercise, GLUT-1.



DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	ix
Summary	xi
Abstract	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat	4
1.4.1 Manfaat akademik	4
1.4.2 Manfaat praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pankreas	6
2.1.1 Anatomi dan fisiologi pankreas	6
2.1.2 Mekanisme kerja insulin	9
2.2 Diabetes Mellitus	16
2.2.1 Pengertian diabetes mellitus	16
2.2.2 Patofisiologi diabetes mellitus	16
2.3 Latihan	20
2.4 Latihan Aerobik	21
2.5 Fisiologi Otot Rangka	22
2.5.1 Struktur otot rangka	22
2.5.2 Mekanisme kontraksi otot rangka	24
2.6 Aktifitas Otot Gastrocnemius pada Latihan	26
2.7 Kontraksi Otot Eksentrik	27
2.8 Pengaruh Latihan Eksentrik terhadap Ekspresi <i>GLUT-1</i> dan <i>GLUT-4</i>	29

	2.9 Streptozotocin	34
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
	PENELITIAN	36
	3.1 Kerangka Konseptual.....	36
	3.1.1 Bagan.....	36
	3.1.2 Penjelasan.....	37
	3.2 Hipotesis	38
BAB 4	METODE PENELITIAN	39
	4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	39
	4.2 Unit Eksperimen, Besar Replikasi, Randomisasi	40
	4.2.1 Unit eksperimen dan besar replikasi.....	40
	4.2.2 Randomisasi	41
	4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	41
	4.4 Variabel Penelitian.....	41
	4.4.1 Variabel bebas	41
	4.4.2 Variabel tergantung	41
	4.4.3 Variabel kendali	42
	4.5 Definisi Operasional	42
	4.6 Alat dan Bahan Penelitian	43
	4.6.1 Alat penelitian	43
	4.6.2 Bahan penelitian	43
	4.7 Instrumen Penelitian	44
	4.8 Prosedur Penelitian	45
	4.8.1 Pra pelaksanaan penelitian	45
	4.8.2 Pelaksanaan penelitian	45
	4.9 Kerangka Operasional	49
	4.10 Teknik Analisis Data	50
	4.11 Etik	50
BAB 5	ANALISIS HASIL PENELITIAN	51
	5.1 Hasil Analisis Deskriptif Data Berat Badan, Kadar Glukosa Darah Mencit dan <i>GLUT-1</i>	51
	5.2 Hasil Uji Normalitas.....	52
	5.3 Hasil Uji Homogenitas	53
	5.4 Hasil Uji T Berpasangan.....	53
	5.5 Hasil Uji Beda.....	54
	5.6 Hasil Uji Beda antar Kelompok	55
	5.7 Hasil Uji Korelasi antara Delta Glukosa Darah dengan <i>GLUT-1</i> antara K1 dan K2.....	55
BAB 6	PEMBAHASAN	57
BAB 7	PENUTUP	64
	7.1 Kesimpulan	64
	7.2 Saran	64
	DAFTAR PUSTAKA.....	66
	LAMPIRAN	72

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	: Transporter glukosa pada mamalia.....	15
Tabel 2.2	: Kadar glukosa darah sewaktu (acak) dan kadar glukosa darah puasa untuk penegakan diagnosis DM (mg/dl).....	18
Tabel 4.1	: Definisi operasional pengaruh latihan eksentrik terhadap ekspresi <i>GLUT-1</i> pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus yang diinduksi <i>streptozotocin</i>	42
Tabel 5.1	: Rerata dan simpang baku berat badan, kadar glukosa darah mencit, dan <i>GLUT-1</i> masing-masing kelompok.....	51
Tabel 5.2	: Hasil uji normalitas.....	52
Tabel 5.3	: Hasil uji homogenitas.....	53
Tabel 5.4	: Hasil uji T berpasangan.....	53
Tabel 5.5	: Hasil uji beda.....	54
Tabel 5.6	: Uji beda antar kelompok.....	55
Tabel 5.7	: Uji korelasi antara K1 dengan K2.....	55



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	: Letak pankreas di rongga abdomen	6
Gambar 2.2	: Jaringan eksokrin dan endokrin pada pankreas	7
Gambar 2.3	: Reseptor insulin	14
Gambar 2.4	: Mekanisme rangsangan insulin melalui reseptor insulin terhadap translokasi <i>GLUT-4</i>	14
Gambar 2.5	: Kerja insulin berdasarkan tipe DM.....	19
Gambar 2.6	: Tingkat organisasi otot rangka.....	23
Gambar 2.7	: Organ otot, serat otot, dan komponen sitoskeleton.....	23
Gambar 2.8	: Pemanjangan sarkomer pada kontraksi eksentrik.....	28
Gambar 2.9	: Kontraksi menyebabkan translokasi dan ekspresi <i>GLUT-1</i> dan <i>GLUT-4</i>	31
Gambar 2.10	: Mekanisme latihan dalam induksi transport glukosa.....	32
Gambar 2.11	: Pengaruh <i>TNFα</i> terhadap <i>GLUT-1</i>	33
Gambar 2.12	: Struktur kimia <i>streptozotocin</i>	34
Gambar 3.1	: Bagan pengaruh latihan eksentrik terhadap ekspresi <i>GLUT-1</i> pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus yang diinduksi <i>streptozotocin</i>	36
Gambar 4.1	: Desain penelitian	39
Gambar 4.2	: Kerangka operasional pengaruh latihan eksentrik terhadap ekspresi <i>GLUT-1</i> pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus yang diinduksi <i>streptozotocin</i>	49
Gambar 5.1	: Grafik rerata kadar glukosa darah GDP dan GDPP <i>post</i> perlakuan	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Analisis Data Berat Badan	72
Lampiran 2	: Analisis Data Glukosa Darah	74
Lampiran 3	: Analisis Data <i>GLUT-1</i>	79
Lampiran 4	: Protokol Induksi Diabetes Menggunakan Streptozotocin....	81
Lampiran 5	: Protokol Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)	83
Lampiran 6	: Protokol Latihan Menggunakan Treadmill	84
Lampiran 7	: Protokol Pemeriksaan Imunohistokimia (Deparaffinisasi) ..	86
Lampiran 8	: Dokumentasi Penelitian	87
Lampiran 9	: Permohonan Ijin Penelitian Departemen Biokimia Unair ...	95
Lampiran 10	: Permohonan Ijin Penelitian Unit Mikroskop Elektron dan Laboratorium Medis Terpadu FK Unair	96
Lampiran 11	: Keterangan Kelaikan Etik FK Unair	97



DAFTAR SINGKATAN

ADA	:	<i>American Diabetes Association</i>
ADP	:	<i>Adenosine Diphosphate</i>
AMP	:	<i>Adenosine Monophosphate</i>
AMPK	:	<i>AMP-activated protein kinase</i>
ATP	:	<i>Adenosin Triphosphate</i>
Ca ⁺	:	<i>Calcium</i>
CaMK II	:	<i>Calmodulin-dependent Protein Kinase II</i>
CCK	:	<i>Kolesistokinin-pankreozimin</i>
DM	:	<i>Diabetes Mellitus</i>
DNA	:	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DOMS	:	<i>Delayed Onset Muscle Soreness</i>
FFA	:	<i>Free Fatty Acid</i>
GABA	:	<i>Gamma Amino Butiric Acid</i>
GDP	:	<i>Gula Darah Puasa</i>
GDPP	:	<i>Gula Darah Post Prandial</i>
dGD	:	<i>delta Glukosa Darah</i>
GIP	:	<i>glucose-dependentinsulintropic peptide</i>
GLUT	:	<i>Glucose Transporter</i>
Gs	:	<i>Glisetin</i>
IRS	:	<i>Insulin Receptor Substrate</i>
KKAMR	:	<i>Kelompok Kajian Animal Modelling Research</i>
LKB1	:	<i>Liver Kinase B1</i>
MAPK	:	<i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
µm ²	:	<i>Mikro meter persegi</i>
Na ⁺	:	<i>Natrium</i>
NAD ⁺	:	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NO	:	<i>Nitric Oxide</i>
ROS	:	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SR	:	<i>Sarcoplasmic Reticulum</i>
STZ	:	<i>Streptozotocin</i>
TNFα	:	<i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah akibat berkurangnya kualitas insulin, sekresi insulin atau keduanya (Munadi, 2008). Penderita diabetes semakin meningkat prevalensinya dari tahun ke tahun. Diabetes mellitus menyebabkan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein terganggu karena kurangnya respons terhadap insulin. Insulin memfasilitasi masuknya glukosa pada jaringan otot. Efek penting insulin pada otot adalah hormon ini mempermudah difusi glukosa mengikuti gradien konsentrasinya dari darah ke dalam sel (McArdle, 2010). Proses itu terjadi karena pengaruh jumlah pengangkut glukosa (*glucose transporter/GLUT*) di membran sel. *GLUT* yang memfasilitasi transportasi glukosa antara lain adalah *GLUT-4* dan *GLUT-1* (Wood *et al.*, 2003).

Konsentrasi glukosa darah pada individu normal dapat terkontrol sesuai batas normal, yaitu antara 80-90 mg/100 ml darah pada kondisi puasa di pagi hari sebelum makan. Konsentrasi glukosa darah meningkat hingga 120-140 mg/ 100 ml darah selama satu jam setelah makan (*post prandial*), namun sistem umpan balik dapat segera mengembalikan konsentrasi glukosa pada rentang normal, yaitu dua jam setelah terjadi absorpsi karbohidrat. Proses normal kontrol glukosa darah di atas tidak lepas dari peran hormon insulin yang memfasilitasi transportasi glukosa ke dalam sel.

Proses ini tidak dapat berjalan dengan baik pada penderita DM sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah dan menghambat metabolisme glukosa, baik oleh sel maupun penyimpanannya menjadi glikogen (Guyton, 2007).

Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 mengalami gangguan translokasi dan ekspresi *GLUT-4* akibat resistensi insulin. Menurut Koivisto (1991), pendekatan melalui terapi insulin *GLUT-4* hanya memberikan efek singkat dan penderita tetap mengalami hiperglikemia. Resistensi insulin pada DM menghambat respon otot terhadap stimulasi insulin, namun otot tetap mampu merespon stimulasi kontraksi (Alessio, 2006). Resistensi insulin mengakibatkan penurunan ekspresi *GLUT-1* otot diabetes yang menyebabkan fasilitasi ambilan glukosa terganggu, kadar glukosa darah meningkat tinggi (hiperglikemia) pada kondisi basal (Ciaraldi *et al.*, 2005). Penderita DM membutuhkan bantuan independen-insulin berupa latihan fisik melalui stimulasi kontraksi untuk meningkatkan respon tubuh terhadap insulin. Respon tersebut terjadi dikarenakan meningkatnya jumlah transporter pada membran sel otot sehingga glukosa dapat masuk ke dalam sel-sel otot dengan cepat (Esteghamati *et al.*, 2008).

Latihan aerobik telah dianjurkan sebagai latihan yang dapat meningkatkan kontrol glukosa, meskipun ada literatur yang mendukung manfaat dari latihan resistensi sebagai komponen menguntungkan dalam pengelolaan DM (Dunstan, 2002). Manfaat dari latihan resistensi berupa kontraksi eksentrik tidak terbatas pada peningkatan kontrol glukosa tetapi juga mencakup pemeliharaan dan peningkatan kekuatan, daya tahan otot, dan *power*.

Latihan eksentrik merupakan salah satu model latihan berdasarkan jenis kontraksi otot. Tipe kerja eksentrik adalah tipe kerja otot dimana kedua ujung/perlekatan otot (origo dan insersio) saling menjauhi dalam artian otot lebih memanjang (Bubbico, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Marcus bahwa latihan eksentrik dapat meningkatkan jaringan otot dan menguntungkan penderita DM daripada menggunakan latihan aerobik saja (Marcus *et al.*, 2008).

Kondisi stres otot akibat kontraksi pada latihan eksentrik menyebabkan pemanjangan sarkomer pada sel otot yang memicu aktivasi protein *p38 MAPK* (*Mitogen Activated Protein Kinase*) di dalam sel yang merupakan protein stres. Aktivasi *p38 MAPK* merangsang translokasi dan ekspresi *GLUT-1* (transporter glukosa tipe 1) ke permukaan membran sel, sehingga *GLUT-1* juga dapat membantu memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel (Xi, 2001). Pelepasan Ca^{2+} akibat kontraksi otot dan kondisi stres pada otot dapat berperan dalam transportasi glukosa sel otot (Rose, 2005).

Streptozotocin (STZ) diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* yang dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji. Aksi STZ intraseluler menghasikan perubahan DNA sel β pankreas sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas (Nugroho, 2010). Induksi STZ menyebabkan terjadinya penghambatan sekresi dan sintesis insulin sehingga glukosa tidak bisa masuk ke dalam otot dan kadar glukosa dalam darah tinggi (hiperglikemia). Berdasarkan uraian di atas, perlu diteliti pengaruh latihan eksentrik terhadap peningkatan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit DM yang diinduksi dengan *streptozotocin* sehingga dapat membantu ambilan glukosa darah oleh otot.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah latihan eksentrik dapat meningkatkan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit (*Mus musculus*) yang dibuat DM dengan induksi *STZ*?
2. Apakah ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit DM (dengan induksi *STZ*) dengan pemberian latihan eksentrik lebih banyak daripada mencit DM (dengan induksi *STZ*) tanpa pemberian latihan eksentrik?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh latihan eksentrik terhadap peningkatan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit yang dibuat DM dengan induksi *STZ*.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan peningkatan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit DM (dengan induksi *STZ*) setelah melakukan latihan eksentrik.
2. Membuktikan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit DM (dengan induksi *STZ*) dengan pemberian latihan eksentrik lebih banyak daripada mencit DM (dengan induksi *STZ*) tanpa pemberian latihan eksentrik.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat akademik

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh latihan eksentrik terhadap translokasi dan ekspresi *GLUT-1* otot gastrocnemius pada mencit DM.

1.4.2 Manfaat praktis

Latihan eksentrik dapat digunakan sebagai dasar untuk meningkatkan ekspresi *GLUT-1* sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah pada penderita DM, yaitu pada manusia.





BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

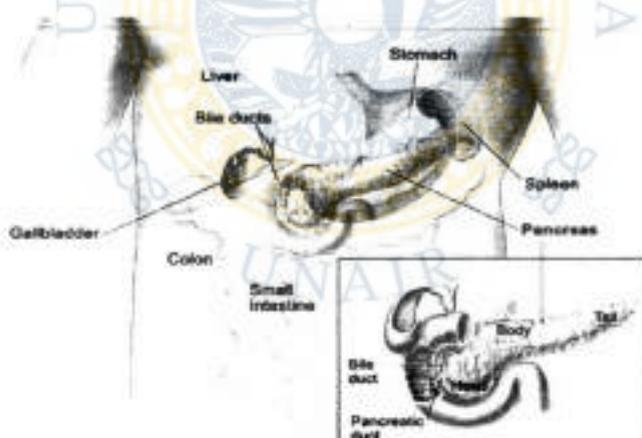
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pankreas

2.1.1 Anatomi dan fisiologi pankreas

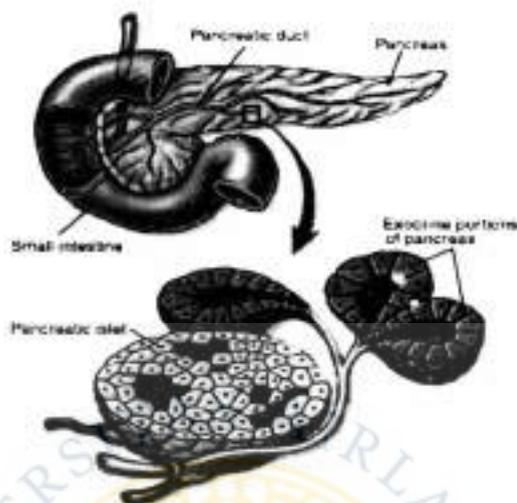
Pankreas adalah kelenjar majemuk bertandan, strukturnya sangat mirip dengan kelenjar ludah. Panjangnya kira-kira 15 cm, mulai dari duodenum sampai limpa, dan dilukiskan terdiri atas 3 bagian. Kepala pankreas yang paling lebar, terletak di sebelah kanan rongga abdomen dan di dalam lekukan duodenum. Badan pankreas merupakan bagian utama pada organ itu dan letaknya di belakang lambung, di depan vertebra lumbalis pertama (Gambar 2.1). Ekor pankreas adalah bagian yang runcing di sebelah kiri dan bersentuhan dengan limpa (Pearce, 2002).



Gambar 2.1 Letak pankreas di rongga abdomen
(Terese Winslow, 2009)

Pankreas terdiri dari 2 jenis jaringan (Gambar 2.2): 1) asini, yang mengeluarkan getah pencernaan melalui duktus pankreatikus ke dalam duodenum

(fungsi eksokrin); dan pulau (*islet*) Langerhans, yang tidak mengeluarkan sekresinya ke dalam duktus tetapi mengalirkannya ke dalam darah (fungsi endokrin) (Guyton, 2007).



Gambar 2.2 Jaringan eksokrin dan endokrin pada pankreas (Mc Graw Hill, 2001)

Pulau Langerhans memiliki 1 sampai 2 juta pada pankreas manusia. Pulau Langerhans pada manusia memiliki 4 jenis sel utama, yaitu sel alfa (sel A/ α), sel beta (sel B/ β), sel delta (Sel D/ δ), dan sel F (Ganong, 2008). Fungsi sel alfa membentuk sekitar 25 persen sel dan merupakan sumber glukagon. Sel beta membentuk sekitar 60 persen sel dan mengeluarkan insulin. Sel delta mengeluarkan somatostatin. Sel PP mengeluarkan polipeptida pankreas (Guyton, 2007).

Fungsi dari keempat sel tersebut akan dijelaskan sebagai berikut:

1. Sel alfa (Sel A/ α)

Sel alfa pulau Langerhans mensekresi glukagon. Glukagon adalah suatu polipeptida yang mengandung 29 residu asam amino. Glukagon mempunyai sifat glikogenolitik, glukoneogenik, lipolitik dan ketogenik. Setelah berikatan dengan

reseptor di sel hati, hormon ini bekerja melalui Gs (Glisetin) untuk mengaktifkan adenil siklase dan meningkatkan *AMP-cyclic* intra sel. Hal ini menyebabkan pengaktifan fosforilase melalui *protein-kinase-A* sehingga terjadi peningkatan pemecahan glikogen dan peningkatan glukosa plasma. Waktu paruh glukagon dalam sirkulasi adalah 5-10 menit. Faktor-faktor yang mempengaruhi sekresi glukagon terdiri dari 2 yaitu stimulator dan inhibitor. Faktor stimulator terdiri dari asam amino (terutama asam amino glukogenik, alanin, serin, glisin, sistein dan treonin), CCK (*kolesistokinin-pankrezozimin*), gastrin, kortisol, olahraga, infeksi, stres, adrenergik β , teofilin, dan asetilkolin. Sedangkan faktor inhibitor terdiri dari glukosa, somatostatin, sekretin, FFA (*Free Fatty Acid*), keton, insulin, fenitoin, adrenergik α dan GABA (*Gamma Amino Butiric Acid*).

2. Sel beta (Sel B/ β)

Sel beta pulau Langerhans mensekresi insulin. Insulin adalah suatu polipeptida yang mengandung 2 rantai asam amino yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Insulin dibentuk di retikulo endoplasma sel beta, kemudian dipindahkan ke aparatus golgi, yaitu tempat dimana insulin mengalami pengemasan dalam granula-granula berlapis membran. Granula-granula ini bergerak ke dinding sel melalui suatu proses yang melibatkan mikrotubulus dan membran granula tersebut. Granula-granula ini kemudian berdifusi melalui membran sel untuk mengeluarkan insulin ke eksterior melalui eksositosis. Hormon insulin yang disekresi oleh sel B ini memiliki peran yang berlawanan dengan glukagon. Hormon insulin berperan dalam penurunan glukosa darah.

3. Sel Delta (Sel D/ δ)

Sel delta pulau Langerhans mensekresi somatostatin. Somatostatin berperan untuk menghambat sekresi insulin, glukagon dan polipeptida pankreas. Somatostatin dikeluarkan oleh sel delta pankreas sebagai respon langsung terhadap peningkatan glukosa darah dan asam amino darah selama penyerapan makanan. Dengan menimbulkan efek inhibisi, somatostatin bekerja melalui mekanisme umpan balik negatif untuk menekan kecepatan pencernaan dan penyerapan makanan sehingga kadar nutrient dalam plasma tidak berlebihan.

4. Sel F

Sel F pulau Langerhans mensekresi polipeptida pankreas. Polipeptida pankreas adalah suatu polipeptida linear yang mengandung 36 residu asam amino. Sekresi polipeptida pankreas meningkat oleh makanan yang mengandung protein, puasa, olahraga dan hipoglikemi akut. Sekresinya menurun oleh somatostatin dan glukosa intravena (Ganong, 2008).

2.1.2 Mekanisme kerja insulin

Insulin memiliki efek penting pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hormon ini menurunkan kadar glukosa, asam lemak, dan asam amino darah serta membantu penyimpanannya di dalam tubuh (Sherwood, 2011).

Insulin memiliki efek penting pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hormon ini menurunkan kadar glukosa, asam lemak, dan asam amino darah serta membantu penyimpanannya di dalam tubuh. Ketika molekul-molekul nutrien tersebut masuk ke dalam darah, insulin membantu proses penyerapannya ke dalam sel, dan mengubahnya masing-masing menjadi glikogen, trigliserida, dan protein. Insulin memiliki empat efek yang menurunkan kadar glukosa darah

dan membantu penyimpanan karbohidrat. Empat efek tersebut adalah sebagai berikut:

1. Insulin mempermudah transport glukosa ke dalam sebagian besar sel tubuh.
2. Insulin merangsang glikogenesis, yaitu pembentukan glikogen dari glukosa di otot rangka dan hati.
3. Insulin menghambat glikogenolisis, yaitu penguraian glikogen menjadi glukosa.
4. Insulin menurunkan pengeluaran glukosa oleh hati dengan menghambat glukoneogenesis, yaitu pemecahan asam amino menjadi glukosa (Sherwood, 2011).

Pengontrol utama sekresi insulin adalah sistem umpan balik negatif langsung antara sel beta pankreas dan konsentrasi glukosa dalam darah. Peningkatan kadar glukosa darah seperti selama penyerapan makanan, secara langsung merangsang sel beta untuk memproduksi dan mensekresi insulin sedangkan penurunan kadar glukosa darah di bawah normal, misalnya sewaktu puasa, secara langsung menghambat sekresi insulin. Sistem umpan balik negatif sederhana ini dapat mempertahankan regulasi glukosa yang relatif konstan tanpa memerlukan bantuan kerja saraf atau hormon lain. Selain konsentrasi glukosa darah, faktor lain yang mengatur sekresi insulin adalah sebagai berikut:

1. Peningkatan kadar asam amino darah, misalnya setelah makan makanan tinggi protein, secara langsung merangsang sel beta untuk meningkatkan sekresi insulin. Melalui mekanisme umpan balik negatif, peningkatan insulin membantu asam amino masuk ke dalam sel sehingga kadar asam amino darah berkurang, sementara sintesis protein meningkat.

2. Hormon saluran cerna yang dikeluarkan sebagai respon terhadap adanya makanan, khususnya *glucose-dependent insulinotropic peptide* (GIP), merangsang pankreas mengeluarkan insulin disamping memiliki efek regulatorik langsung pada sistem pencernaan.
3. Sistem saraf otonom juga secara langsung mempengaruhi sekresi insulin. Pulau Langerhans memiliki banyak persarafan parasimpatis dan simpatis. Peningkatan aktifitas parasimpatik yang terjadi sebagai respon terhadap makanan di saluran cerna merangsang pengeluaran insulin. Sebaliknya, stimulasi simpatis dan peningkatan epinefrin yang menyertainya menghambat sekresi insulin (Sherwood, 2011).

Insulin bersirkulasi dalam darah dengan waktu paruh rata-rata 5-6 menit dan dibersihkan dari sirkulasi darah dalam waktu 10-15 menit, kecuali sebagian insulin yang berikatan dengan reseptor insulin pada sel, sisanya insulin akan didegradasi oleh enzim insulinase terutama di hati. Perombakan insulin dalam darah sangat penting, karena akan mempengaruhi regulasi glukosa (Guyton, 2007).

Insulin memulai kerjanya melalui ikatan dengan reseptor yang terletak pada permukaan sel target. Reseptor insulin adalah *tyrosine kinase*. Reseptor ini terdapat pada semua sel target, seperti otot dan jaringan adiposa. Reseptor insulin mempunyai berat molekul sekitar 340.000, berbentuk tetramer yang terdiri dari 2 subunit α -glikoprotein dan 2 subunit β -glikoprotein. Semuanya disintesis dalam ribosom, secara proteolitik dipisah dan diikat satu sama lain melalui disulfida. Gen untuk reseptor insulin mempunyai 22 akson dan berada di kromosom 19 (Ganong, 2008). Subunit α -glikoprotein terletak diluar sel (ekstrasel) dan

berikatan dengan insulin, sedangkan subunit β merupakan protein transmembran (melintasi membran) dan mempunyai aktivitas tirosin kinase pada subunit β yang berada di dalam sel. Gambar 2.6 di bawah ini menunjukkan bagian-bagian dari reseptor insulin (Guyton, 2007).

Insulin bekerja mengubah glukosa menjadi glikogen di dalam sel-sel hati maupun otot, ini terjadi bila kadar glukosa di dalam darah meningkat. Sebaliknya bila glukosa darah menurun, glikogen hati dimobilisasikan sehingga menaikkan kembali konsentrasi glukosa di dalam aliran darah (Sediaoetama, 2000). Molekul-molekul nutrien tersebut masuk ke dalam darah, insulin membantu proses penyerapannya ke dalam sel, dan mengubahnya masing-masing menjadi glikogen, trigliserida, dan protein. Insulin memiliki efek pada hati, yaitu:

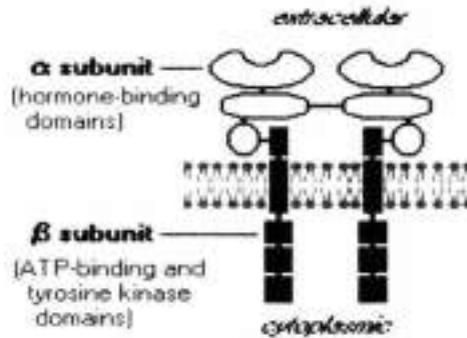
1. Meningkatkan aliran glukosa ke dalam sel, yaitu dengan menginduksi glukokinase, yang meningkatkan fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat.
2. Meningkatkan sintesis glikogen dengan mengaktifkan glikogen sintesa.
3. Mengarahakan aliran glukosa melalui glikolisis dengan meningkatkan aktivitas enzim-enzim glikolitik utama.
4. Menurunkan pengeluaran glukosa oleh hati melalui beberapa cara. Pertama, insulin mengganggu glikogenolisis dengan menghambat glikogen fosforilase. Kedua, insulin mengurangi keluarnya glukosa dari hati dengan menghambat glukosa-6-fosfatase. Ketiga, insulin menghambat glukoneogenesis dengan menurunkan penyerapan asam amino oleh hati.
5. Meningkatkan sintesis asam lemak. Pertama, insulin meningkatkan aliran glukosa menjadi piruvat (glikolisis) dan perubahan selanjutnya menjadi asetil-



koenzim A. Kedua, insulin merangsang asetil-koA karboksilase, yang mengubah asetil-koA menjadi malonil-koA (Guyton, 2007).

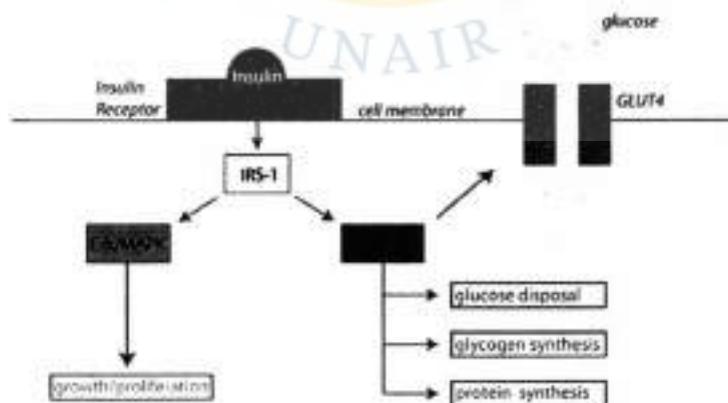
Glukosa darah dapat masuk ke dalam sel melalui proses difusi terfasilitasi. Glukosa yang diangkut ke dalam sel otot mengalami glikolisis dan oksidasi kemudian disimpan sebagai glikogen. Insulin memfasilitasi masuknya glukosa ke dalam sel seperti pada otot, jaringan adiposa atau jaringan yang lain dengan cara peningkatan jumlah transporter glukosa (*GLUT*) pada membran sel (Ganong, 2008). Transporter glukosa diperlukan untuk memfasilitasi ambilan glukosa darah masuk ke dalam sel otot. Setiap jaringan mempunyai komposisi transporter glukosa yang berbeda, berkaitan dengan karakteristik pengambilan glukosa dari jaringan tersebut. Glukosa masuk ke dalam sel otot biasanya sangat bergantung pada insulin, sehingga penyerapan oleh sel-sel ini terbatas pada masa setelah makan (*postprandial*) saat insulin disekresikan atau ketika berolahraga saat transport glukosa bersifat independen-insulin (Guyton, 2007).

Insulin memulai kerjanya melalui ikatan dengan reseptor yang terletak pada permukaan sel target. Reseptor insulin adalah tirosin kinase. Reseptor ini terdapat pada semua sel target, seperti otot dan jaringan adiposa. Insulin reseptor merupakan reseptor transmembran yang diaktifasi oleh insulin. Struktur reseptor insulin terdiri atas 2 subunit α dan 2 subunit β . Subunit β melewati membran sel dan diikat oleh ikatan disulfida. Reseptor insulin yang merupakan reseptor tirosin kinase memediasi aktivitasnya dengan memfosforilasi tirosin pada protein di dalam sel (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Reseptor insulin (R. Bowen, 2009)

Protein substrat yang difosforilasi oleh reseptor insulin termasuk protein yang disebut IRS-1 atau *Insulin Receptor Substrate 1*. Terfosforilasinya ikatan IRS-1 akan meningkatkan afinitas molekul transporter glukosa yaitu *GLUT-4* di membran luar jaringan yang responsif terhadap insulin seperti sel otot dan jaringan lemak, sehingga meningkatkan masuknya glukosa ke dalam sel (Gambar 2.4). Hal ini merupakan mekanisme sinyal untuk terjadinya translokasi transporter glukosa (*GLUT-4*) ke membran sel sehingga memfasilitasi masuknya glukosa ke dalam sel dan juga merangsang sintesis glikogen (Ganong, 2008).



Gambar 2.4 Mekanisme rangsangan insulin melalui reseptor insulin terhadap translokasi *GLUT-4* (Bill Willis, 2010)

Transporter glukosa ada 7 macam (*GLUT-1* sampai *GLUT-7*) pada mamalia (Ganong, 2008). *GLUT-1* dan *GLUT-3* selalu berada dipermukaan sel setiap waktu, dan terdapat pada plasenta, otak, ginjal dan organ yang lain. *GLUT-4* berada dalam sitoplasma jika tidak tersedia insulin (Guyton, 2007). *GLUT-4* akan bergerak kemembran sel sebagai respon terhadap insulin melalui ikatannya dengan reseptor. *GLUT-4* adalah transporter dalam otot dan jaringan adiposa. *GLUT-2* terdapat pada sel beta pankreas dan hati dimana kerjanya tidak tergantung pada insulin. *GLUT-5* terdapat pada jejunum dan sperma (Tabel 2.1). *GLUT-6* fungsinya masih belum jelas, sedangkan *GLUT-7* berfungsi sebagai transporter glukosa 6-fosfat dalam retikulum endoplasma yang terdapat di hati (Ganong, 2008). Berikut tipe transporter glukosa yang ada pada mamalia:

Tabel 2.1 Transporter glukosa pada mamalia (Ganong, 2008)

Tipe GLUT	Fungsi	K_m (mM)	Tempat utama ekspresi
<i>GLUT-1</i>	Ambilan glukosa basal	1-2	Plasenta, otak, sel darah merah, ginjal, kolon, banyak organ lain
<i>GLUT-2</i>	Sensor glukosa sel beta, membawa keluar sel epitel ginjal dan usus	12-20	Sel beta pulau langerhans, hati, sel epitel usus halus, ginjal
<i>GLUT-3</i>	Ambilan glukosa basal	< 1	Otak, plasenta, ginjal, banyak organ lain
<i>GLUT-4</i>	Ambilan glukosa yang dirangsang oleh insulin	5	Otot rangka dan jantung, jaringan adipose, jaringan lain
<i>GLUT-5</i>	Penyerapan makanan	1-2	Jejunum
<i>GLUT-6</i>	-	-	Pseudogen
<i>GLUT-7</i>	Transporter 6-fosfat retikulum endoplasma	-	Hati, jaringan lain

2.2 Diabetes Mellitus

2.2.1 Pengertian diabetes mellitus

Diabetes mellitus adalah gangguan yang mempengaruhi kemampuan tubuh untuk membuat atau menggunakan insulin. Insulin adalah hormon yang diproduksi di pankreas yang membantu mengangkut glukosa (gula darah) dari aliran darah ke dalam sel sehingga mereka dapat memecahnya dan menggunakannya untuk bahan bakar (Riaz, 2009).

Diabetes menghasilkan tingkat abnormal glukosa dalam aliran darah. Hal ini dapat menyebabkan konsekuensi jangka pendek dan jangka panjang yang parah mulai dari kerusakan otak yang menyebabkan amputasi dan penyakit jantung (ADA, 2012).

Diabetes Mellitus mempunyai 2 tipe, yaitu pertama adalah DM tipe 1 yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin. Kedua adalah DM tipe 2 yang disebabkan oleh resistensi jaringan sasaran terhadap efek metabolik insulin (Guyton, 2007).

2.2.2. Patofisiologi diabetes mellitus

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit dimana kadar glukosa di dalam darah tinggi karena tubuh tidak dapat melepaskan atau menggunakan insulin secara cukup sehingga mengakibatkan hiperglikemia. Glukosa secara normal bersirkulasi dalam jumlah tertentu dalam darah. Glukosa dibentuk di hati dari makanan yang dikonsumsi.

Glukosa merupakan gula sederhana yang diperoleh dari pencernaan dan metabolisme karbohidrat (Williams, 2007). Glukosa masuk ke dalam tubuh selama dan setelah makanan dicerna, kemudian nutrisi diserap di saluran

pencernaan. Glukosa diambil oleh sel mukosa intestinal secara aktif. Proses ini membutuhkan energi dan *co-transporter-Na⁺* membran sel. Sodium dan glukosa ditransportasikan dari lumen saluran pencernaan ke dalam enterosit (sel mukosa intestinal). Pada enterosit, glukosa masuk ke dalam kapiler pembuluh darah. Proses selanjutnya dijalankan oleh transporter glukosa fasilitatif yaitu *GLUT-2*. Glukosa ini beredar di dalam darah sebagai sumber energi yang tersedia untuk sel-sel yang membutuhkannya, akan tetapi glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel secara langsung. Glukosa membutuhkan insulin untuk membantu transportasinya ke dalam sel (Williams, 2007).

Kadar insulin cukup dan sensitif dalam keadaan normal artinya, insulin akan ditangkap oleh reseptor insulin yang ada pada permukaan otot, kemudian membuka pintu masuk ke sel hingga glukosa dapat masuk. Proses ini pada penderita DM tidak dapat berjalan dengan baik, sehingga menghambat metabolisme glukosa, baik penggunaan oleh sel maupun penyimpanan menjadi glikogen.

Penyebab pasti terjadinya DM belum diketahui, namun ada beberapa faktor yang memperbesar kemungkinan terjadinya DM. Faktor-faktor tersebut meliputi:

1. Orang tua atau saudara kandung memiliki DM
2. Obesitas
3. Usia lebih dari 45 tahun
4. Kelompok etnik tertentu seperti Amerika, kulit hitam, dan bangsa Latin
5. Riwayat DM selama kehamilan (diabetes gestasional) atau kelahiran bayi dengan berat lebih dari 4,1 kg

6. Tekanan darah tinggi
7. Kadar trigliserida tinggi
8. Kadar kolesterol tinggi (Williams, 2007)

Konsentrasi glukosa darah dapat terkontrol sesuai batas normal pada individu normal, yaitu antara 80-90 mg/100 ml darah pada kondisi puasa di pagi hari sebelum makan. Konsentrasi glukosa darah meningkat hingga 120-140 mg/100 ml darah selama satu jam setelah makan, namun sistem umpan balik dapat segera mengembalikan konsentrasi glukosa pada rentang normal, yaitu dua jam setelah terjadi absorpsi karbohidrat. Proses normal kontrol glukosa darah di atas tidak lepas dari peran hormon insulin yang memfasilitasi transportasi glukosa ke dalam sel. Pada penderita DM, proses ini tidak dapat berjalan dengan baik sehingga menghambat metabolisme glukosa, baik oleh sel maupun penyimpanan menjadi glikogen (Guyton, 2007).

Tabel 2.2 Kadar glukosa darah sewaktu (acak) dan kadar glukosa darah puasa untuk penegakan diagnosis DM (mg/dl)

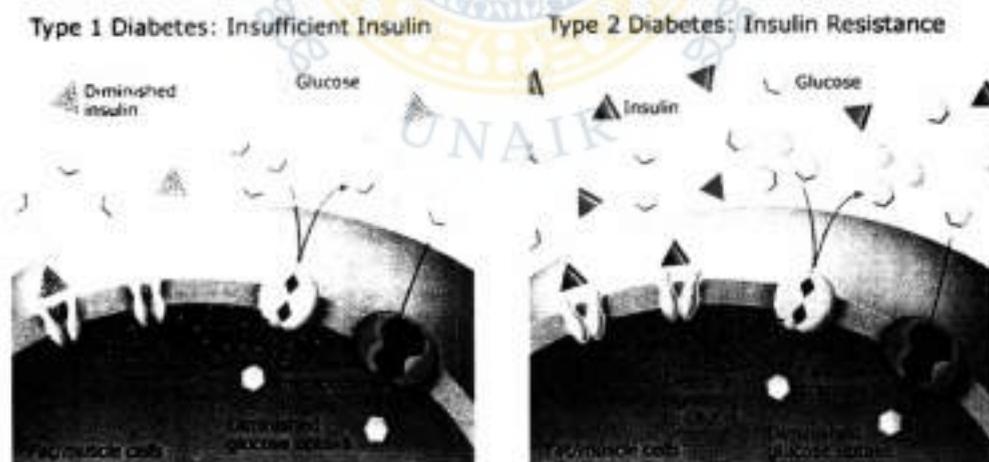
			Bukan DM	Belum Pasti DM	DM
Kadar Darah sewaktu	Glukosa	Plasma Vena	< 100	100 – 199	≥ 200
		Darah Kapiler	< 90	90 – 199	≥ 200
Kadar Darah Puasa	Glukosa	Plasma Vena	< 100	100 – 125	≥ 126
		Darah Kapiler	< 90	90 – 9	≥ 100

Sumber: Perkeni (2006)

Menurut Perkeni (dalam Huzaimah, 2012), diagnosis klinis DM umumnya akan dipikirkan bila ada keluhan khas DM berupa poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Apabila ada keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu > 200

mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis DM (Tabel 2.2).

DM terjadi karena jumlah insulin kurang atau terjadi resistensi insulin, sehingga pintu masuk glukosa ke dalam sel menjadi tidak dapat terbuka dan glukosa tetap berada dalam darah akibatnya kadar glukosa dalam darah meningkat. Terdapat 2 bentuk diabetes mellitus, yaitu Diabetes Mellitus Tipe I dan Diabetes Mellitus Tipe II. DM I sering terjadi akibat perusakan autoimun sel beta meskipun dapat juga disebabkan oleh rusaknya sel beta akibat infeksi virus. DM II ditandai oleh gangguan kemampuan jaringan sasaran berespons terhadap efek metabolik insulin, yang disebut resistensi insulin (Gambar 2.5). Berbeda dari diabetes tipe I, morfologi sel beta pankreas normal selama sakit, dan terjadi peningkatan laju sekresi insulin dan biasanya berkaitan dengan obesitas (Guyton, 2007).



Gambar 2.5 Kerja insulin berdasarkan tipe DM (Zaid, 2011)

Hiperglikemia merupakan tanda utama DM. Hiperglikemia terjadi karena berkurangnya penyerapan glukosa oleh sel, disertai oleh peningkatan pemecahan glukosa oleh hati (Sherwood, 2011). Proses glikogenolisis dan glukoneogenesis oleh yang menghasilkan glukosa berlangsung tanpa kendali karena tidak ada insulin. Karena banyak sel tubuh yang tidak dapat menggunakan glukosa tanpa bantuan insulin maka terjadi kelebihan glukosa ekstrasel yang bersamaan dengan terjadinya defisiensi glukosa intrasel. Glukosa darah (ekstrasel) meningkat pada kadar dimana jumlah glukosa yang tersaring melebihi kemampuan sel tubulus ginjal melakukan reabsorpsi maka glukosa muncul di urin (glukosuria). Glukosa yang terdapat di urin menimbulkan efek osmotik yang menarik H₂O bersamanya, menyebabkan diuresis osmotik yang ditandai oleh polyuria (sering berkemih). Besarnya cairan yang keluar dari tubuh menyebabkan dehidrasi, yang selanjutnya dapat menyebabkan kegagalan sirkulasi perifer karena berkurangnya volume darah. Kegagalan sirkulasi ini secara persisten (dalam jangka waktu lama) jika tidak diperbaiki dapat menyebabkan berkurangnya aliran darah ke otak dan ginjal, sehingga muncul gangguan fungsi otak dan ginjal.

2.3 Latihan

Latihan adalah gerakan tubuh yang terencana dan terstruktur yang dilakukan berulang-ulang untuk menyempurnakan atau mempertahankan komponen kebugaran (Zajko *et al.*, 2009). Pada prinsipnya latihan adalah memberikan tekanan fisik secara teratur, sistematis, berkesinambungan sedemikian rupa sehingga dapat meningkatkan kemampuan fisik di dalam melakukan aktivitas fisik (Fox, 1993).

Ada dua istilah latihan yaitu *acute exercise* (latihan yang bersifat akut) dan *chronic exercise* (latihan yang bersifat kronik). *Acute exercise* adalah latihan yang dilakukan hanya sekali saja atau disebut juga dengan *exercise*, sedangkan *chronic exercise* adalah latihan yang dilakukan berulang-ulang sampai beberapa hari atau sampai beberapa bulan atau biasa disebut *training* (McArdle, 2010). Perubahan yang terjadi pada waktu seseorang melakukan *exercise* disebut dengan respon. Latihan fisik sebaiknya dilakukan sesuai dengan kemampuan tubuh dalam menanggapi stres yang diberikan, bila tubuh diberi beban latihan yang terlalu ringan maka tidak akan terjadi proses adaptasi. Tubuh tidak akan bisa mentolerir jika beban latihan yang diberikan terlalu berat sehingga dapat menyebabkan terganggunya proses homeostasis pada sistem tubuh dan dapat mengakibatkan kerusakan.

2.4 Latihan Aerobik

Aktivitas fisik secara umum dikelompokkan menjadi 3 macam (McArdle, 2010): 1) Latihan kelentukan, 2) Aktivitas aerobik, dan 3) Aktivitas anaerobik. Latihan fisik dapat terbagi dalam berbagai macam bentuk. Salah satu pembagian tersebut adalah berdasarkan pemakaian oksigen atau sistem energi dominan yang digunakan dalam suatu latihan, yaitu latihan aerobik dan anaerobik (Maqsalmina, 2007).

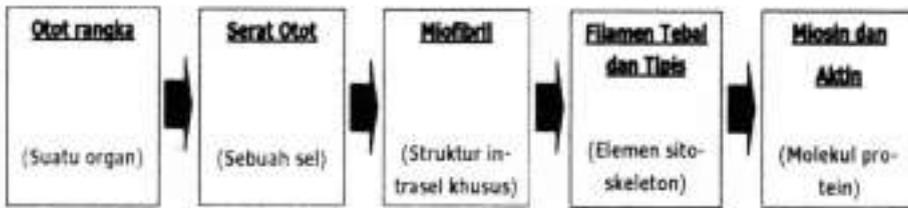
Latihan aerobik adalah latihan yang menggunakan energi yang berasal dari pembakaran dengan oksigen dan membutuhkan oksigen. Latihan anaerobik adalah latihan yang menggunakan energi dari pembakaran tanpa oksigen. Hal ini berarti bahwa hampir seluruh energi yang dibutuhkan untuk aktifitas otot dihasilkan oleh proses aerobik dan anaerobik (Sukmaningtyas, 2004).

Kapasitas kerja aerobik dapat ditingkatkan melalui bentuk-bentuk latihan dengan beban ringan dan waktu yang cukup lama (Bompa, 1994). Contoh latihan aerobik adalah lari, jalan, treadmill, bersepeda, renang. Efek olahraga aerobik adalah kebugaran kardiorespiratori, karena olahraga tersebut mampu meningkatkan ambilan oksigen, meningkatkan kapasitas darah untuk mengangkut oksigen dan denyut nadi menjadi lebih rendah saat istirahat maupun beraktifitas. Manfaat lainnya, aerobik bisa meningkatkan jumlah kapiler, menurunkan jumlah lemak dalam darah dan meningkatkan enzim pembakar lemak (Media Indonesia, 2003).

2.5 Fisiologi Otot Rangka

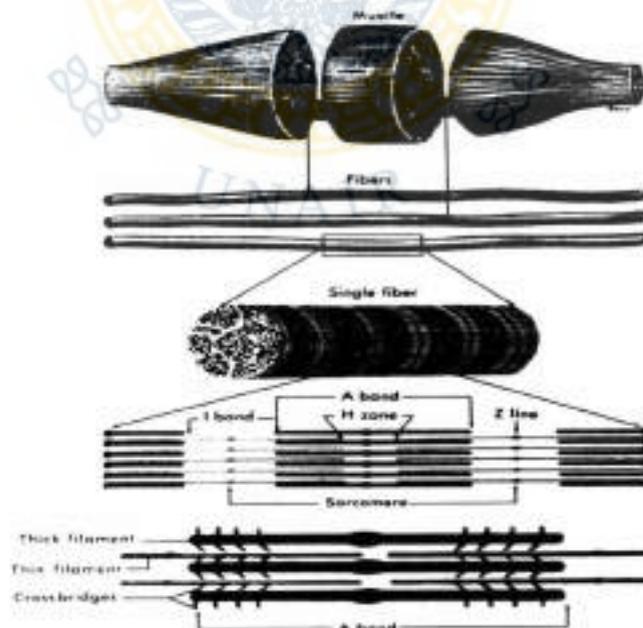
2.5.1 Struktur otot rangka

Otot secara umum dibagi atas 3 jenis, yaitu otot rangka, otot jantung, dan otot polos yang masing-masing mempunyai struktur dan fungsi tersendiri. Otot rangka tersusun dari serat otot yang merupakan balok penyusun (*building blocks*) sistem otot (Ganong, 2008). Gambaran struktural utama pada sebuah serat otot rangka adalah banyaknya miofibril. Elemen kontraktile khusus ini, yang membentuk 80% volume serat otot, adalah struktur silindris intrasel dengan garis tengah 1 μm dan terbentang di seluruh panjang serat otot. Setiap miofibril terdiri dari susunan teratur elemen-elemen sitoskeleton filamen tipis dan tebal yang tertata rapi. Filamen tebal, yang bergaris tengah 12 sampai 18 nm dan panjang 1,6 μm , terdiri dari protein miosin; sementara filamen tipis yang bergaris tengah 5 sampai 8 nm dan panjang 1,0 μm , terutama dibentuk oleh protein aktin (Gambar 2.6).



Gambar 2.6 Tingkat organisasi otot rangka (Sherwood, 2011)

Fungsi otot rangka adalah kontraksi yang menyebabkan perubahan posisi, menggerakkan rangka satu terhadap yang lain atau disebut juga gerakan anggota tubuh (*motor movement*) (Effendi, 2009). Setiap serabut otot terdapat sejumlah elemen kontraktile (miofibril) yang merupakan unit yang berfungsi sebagai kontraksi otot. Sarkolema merupakan membran sel dari sebuah serabut otot khususnya pada serabut otot rangka, sedangkan sarkoplasma merupakan sitoplasma pada sebuah serabut otot. Miofibril membentuk beberapa sarkomer yang didalamnya terdapat dua jenis miofilamen protein kontraktile yaitu filamen aktin dan miosin (Willmore, 1994).



Gambar 2.7 Organ otot, serat otot, dan komponen sitoskeleton (Arthur, 2009)

Miofibril terdapat istilah pita, garis, dan zona (yang merupakan alat kontraktile). Pita-pita pada miofibril tersusun secara sejajar satu sama lain. Pita-pita tersebut adalah pita A dan pita I (Gambar 2.7). Garis Z memotong fibril dan terhubung ke filamen tipis (Ganong, 2008). Pada miofibril zona H tidak dicapai oleh filamen tipis. Garis M berjalan vertikal di bagian tengah pita A di dalam bagian tengah zona H (Sherwood, 2011). Protein lain yang terlibat dalam miofibril adalah protein titin. Titin adalah protein besar yang memanjang dari garis M ke garis Z pada sarkomer. Titin telah diketahui bertanggungjawab pada banyak hal, seperti sebagai penopang beban pada otot dan memiliki nilai ketika terjadi tegangan pada otot (Lieber, 2002).

Serat otot dikelilingi oleh struktur yang terbuat dari membran yang tampak dalam fotomikrograf mikroskop elektron sebagai vesikel dan tubulus. Struktur ini membentuk sistem sarkotubulus, yang terdiri atas sistem T-tube dan sarkoplasma retikulum (Ganong, 2008). Sarkoplasma retikulum adalah endoplasmik retikulum pada otot rangka, sedangkan sistem T-tube berasal dari invaginasi membran sel otot rangka, sehingga komposisi cairan yang ada di lumen T-tube hampir sama dengan interstisial, juga kadar Ca^{2+} yang ada di lumen T-tube hampir sama dengan cairan interstisial. Ujung SR (sarkoplasmik retikulum) membentuk suatu pembesaran yang disebut *sisternae*. Dua resisten dan satu ujung T-tube membentuk suatu struktur yang disebut *Triad*. *Sisternae* SR merupakan depo ion kalsium, yang akan dikeluarkan pada saat potensial aksi (Effendi, 2009).

2.5.2 Mekanisme kontraksi otot rangka

Proses terjadinya kontraksi otot tak lepas dari peranan koordinasi dari susunan saraf pusat, motor neuron, motor unit, sinaps, neuromuscular junction,

asetilkolin, dan miofibril. *Discharge impuls* dari alpha motoneuron medulla spinalis/batang otak, impuls sampai di neuromuscular junction. Impuls menyebabkan pembukaan *voltage-gated Ca^{2+} channels* di neurolema ujung akson, influks Ca^{2+} menuju sitosol axon merangsang terjadinya *docking vesikel* dan eksositosis sehingga asetilkolin keluar ke celah sinap neuromuscular junction. Asetilkolin berikatan dengan reseptor nikotik yang ada di sarkolema, menyebabkan pembukaan saluran Na^+ dan memicu influks dari Na^+ . Impuls yang terjadi akan dihantarkan ke semua arah sepanjang sarkolema juga masuk ke dalam sel otot melalui membran saluran sistem sarkotubuler. Impuls yang dihantarkan melalui sistem sarkotubuler akan mencapai Triad yang menyebabkan sistem sarkoplasmik retikulum terangsang, sehingga terjadi pelepasan Ca^{2+} . Ca^{2+} segera mengikat troponin C, yang menyebabkan *active binding site actin* terbuka, sehingga kepala miosin dapat menempel dan menarik filamen aktin untuk lebih mendekat ke arah filamen miosin. Inilah yang disebut *sliding* antara actin dengan myosin, atau disebut kontraksi. Makin banyak sarkomer yang aktif berarti makin kuat kontraksi serabut otot bergaris terjadi. Ca^{2+} diangkut masuk kembali ke dalam sarkoplasmik retikulum secara aktif sehingga Ca^{2+} terlepas dari troponin C. *Active site actin* tertutup kembali sehingga kepala miosin menjadi terlepas dan fase relaksasi terjadi (Effendi, 2009).

Otot dapat berkontraksi dan relaksasi bila mana tersedia ATP. Kontraksi otot terjadi karena adanya ikatan antara aktin (filamen tipis otot) dengan miosin (filamen tebal otot). Sedangkan relaksasi terjadi manakala ikatan tersebut lepas. Kontraksi otot diawali dengan stimulasi oleh sekresi Ca^{2+} dari sarkoplasmik retikulum. Selanjutnya Ca^{2+} terikat pada troponin. Ikatan ini menjadikan

perubahan struktur tropomiosin yang memungkinkan terjadinya ikatan antara aktin dan miosin. Kepala miosin melakukan kontak dengan molekul aktin. Diperlukan ATP untuk membentuk ikatan ini. Sebaliknya, saat ikatan antara aktin dan miosin ini akan terlepas, juga diperlukan ATP. Proses berikatan–lepas ini berulang terus hingga kontraksi otot mencapai optimal (Ekanto, 2011).

2.6 Aktifitas Otot Gastrocnemius pada Latihan

Komponen dalam otot dapat mendefinisikan jenis otot. Otot rangka dapat menjalani aktivitas yang berbeda dan berubah secara signifikan melalui adaptasi tergantung pada intensitas, durasi dan jenis latihan (Kyrolainen *et al.*, 2005).

Menurut Ariano (dalam Haan, 1989), otot gastrocnemius terdiri dari campuran serabut otot, yaitu serabut otot cepat putih (tipe II b) sebanyak 60% dan serabut otot cepat merah (tipe II a) sebanyak 40% dan serabut otot merah. Latihan *endurance* (aerobik) mempunyai persentase tinggi pada serabut otot merah yang terjadi pada kelompok otot dalam latihan (90-95% dalam otot gastrocnemius) (Bellafiore *et al.*, 2007).

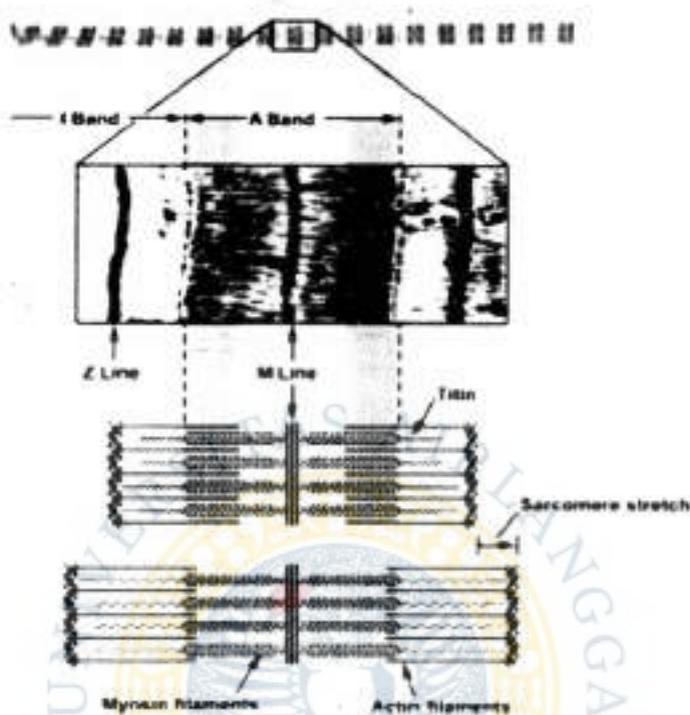
Latihan *endurance* berpengaruh pada ekspresi titin sebagai protein yang berpengaruh untuk meningkatkan elastisitas otot dan stabilitas dalam merespon tingginya regangan selama latihan. Mekanisme tersebut mungkin penting untuk meminimalkan otot konsumsi energi dan meningkatkan kinerja selama latihan *endurance* (Bellafiore *et al.*, 2007). Mobilitas menjadi sumber utama fleksibilitas dalam titin. Fleksibilitas ini terutama penting dalam wilayah *I-band* yang mengubah konformasi, melingkar atau memanjang, dan merupakan dasar dari elastisitas sarkomer (Trinick, 1996).

2.7 Kontraksi Otot Eksentrik

Kontraksi otot dibedakan menjadi isotonik dan isometrik. Isotonik adalah kontraksi otot dengan beban konstan dari awal sampai akhir gerakan (tension tetap, terjadi perubahan panjang otot). Kontraksi isometrik adalah kontraksi otot dimana tidak terjadi perubahan panjang otot (panjang tetap beban dapat berubah). Ketika otot tersebut berkontraksi terjadi dua tipe kerja otot yaitu tipe kerja eksentrik dan tipe kerja konsentrik. Tipe kerja eksentrik adalah tipe kerja otot dimana kedua ujung/perlekatan otot (origo dan insersio) saling menjauhi dalam artian otot lebih memanjang. Tipe kerja konsentrik adalah tipe kerja dimana kedua ujung/perlekatan otot (origo dan insersio) saling mendekat atau dalam keadaan memendek. Gerakan otot eksentrik (pemanjangan otot) terjadi sebagai pengereman atau kekuatan perlawanan terhadap gerakan konsentrik pada banyak gerakan untuk melindungi struktur sendi dari kerusakan atau cedera (Bubbico, 2010).

Miofilamen serat otot memanjang saat kontraksi, mungkin ada sebuah penurunan nilai pada pelepasan jembatan silang yang mengakibatkan peningkatan produksi kekuatan pada kontraksi eksentrik (Herzog *et al.*, 2008). Selain itu, ada peningkatan kekakuan pada protein titin selama kontraksi eksentrik. Titin menambahkan peningkatan kekuatan pasif pada produksi kekuatan otot ketika memanjang. Titin terikat pada aktin ketika aktivitas pemanjangan otot (kontraksi eksentrik). Hal ini merupakan penjelasan bahwa kontraksi eksentrik membutuhkan lebih sedikit energi dibandingkan kontraksi konsentrik (pemendekan otot). Protein titin menyediakan banyak kestabilan pada pemanjangan otot dan membantu melindungi sarkomer dari kerusakan (Joumaa *et*

al., 2007). Selama kontraksi eksentrik, protein miotilin berperan sebagai kunci pada perubahan bentuk miofibril dan penyusunan rangkaian sarkomer.



Gambar 2.8 Pemanjangan sarkomer pada kontraksi eksentrik (Bret Contreras, 2011)

Semua jenis kontraksi otot dapat menyebabkan DOMS (*delayed onset muscle soreness*), tidak terkecuali kontraksi eksentrik. Nyeri otot dengan hilangnya fungsi setelah latihan eksentrik lebih umumnya dikenal (*DOMS*) (Trenell *et al.*, 2006). *DOMS* fokus pada tingkat tegangan yang irreversibel selama sarkomer mengalami kontraksi eksentrik, menghasilkan kerusakan komponen pada sarkomer. Retikulum sarkoplasma mungkin menjadi terlalu panjang ketika kontraksi eksentrik sehingga menyebabkan substansi ion kalsium dilepaskan dari dalam retikulum sarkoplasma (Gambar 2.8) (Bubbico, 2010).

2.8 Pengaruh Latihan Eksentrik terhadap Ekspresi *GLUT-1* dan *GLUT-4*

Pengelolaan penyakit DM terdiri atas trias yaitu, diet, kegiatan fisik dan medikamen (Sediaoetama, 2000). Latihan fisik pada penderita DM memiliki peranan yang sangat penting dalam mengendalikan kadar gula dalam darah, dimana saat melakukan latihan fisik terjadi peningkatan pemakaian glukosa oleh otot yang aktif sehingga secara langsung dapat menyebabkan penurunan glukosa darah (Indriyani, 2007).

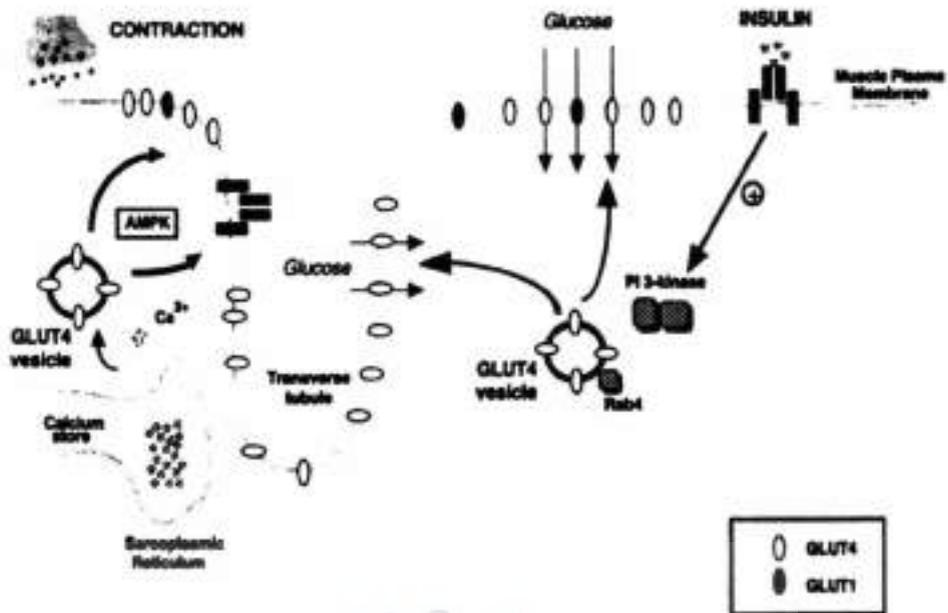
Latihan eksentrik merupakan salah satu model latihan berdasarkan jenis kontraksi otot. Selain latihan eksentrik, terdapat latihan isometrik. Latihan isometrik merupakan latihan yang ototnya mengalami kontraksi yang isometrik, artinya tidak terlihat adanya gerakan. Menurut Marieb (dalam Rajin, 2010), pada kontraksi isometrik, jembatan persilangan (*Cross Bridges*) membangkitkan kekuatan tetapi tidak menggerakkan filamen, sehingga tidak merubah pola ikatan kepala miosin kepada aktin dari keadaan istirahat. Pada latihan eksentrik, kontraksi menyebabkan jembatan silang miosin melekat dan protein aktin saling menjauh sehingga terjadi pemanjangan sarkomer. Pada kontraksi eksentrik, otot memanjang, karena diregangkan oleh suatu gaya eksternal selagi berkontraksi (Sherwood, 2011).

Aktivitas fisik akan mempengaruhi glukosa darah, oleh karena meningkatkan ambilan glukosa ke dalam otot rangka (*glucose uptake*) pada orang normal maupun pada orang dengan diabetes tipe II (Effendi, 2012). Pada penelitian yang dilakukan Rose dan Rithcer (dalam Effendi, 2012), menunjukkan bahwa pada hewan coba maupun pada manusia menunjukkan peningkatan

ambilan glukosa pada otot rangka, makin tinggi intensitas latihan makin banyak glukosa yang masuk ke dalam sel otot rangka.

Kontraksi eksentrik erat hubungannya dengan metabolisme otot dan pelepasan ion Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma. Ketika terjadi kontraksi eksentrik, jembatan silang miosin melekat dan protein aktin saling menjauh sehingga terjadi pemanjangan sarkomer. Pemanjangan ini juga menyebabkan retikulum sarkoplasma teregang dan mengeluarkan substansi ion kalsium. Pemanjangan ini juga menghasilkan tegangan pada sarkomer yang melibatkan protein aktin dan miosin (Bubbico, 2010). Kedua proses fisiologi kontraksi eksentrik ini yang akan memberikan stimulasi pada transporter glukosa fasilitatif sel otot, sehingga dapat meningkatkan ambilan glukosa darah otot.

Kontraksi otot menyebabkan pelepasan Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma (Rose, 2005). Sebuah tanda kontraksi otot adalah Ca^{2+} dilepaskan dari sarkoplasma retikulum yang diinduksi melalui depolarisasi dari tubulus transversal yang berdekatan (Wijesekara *et al.*, 2006). Ion kalsium di dalam sitosol meningkat pada saat kontraksi otot, makin tinggi intensitas kontraksi makin banyak ion kalsium berada di sitosol (Effendi, 2012). Peningkatan konsentrasi Ca^{2+} di dalam plasma sel (sitosol) memicu fosforilasi enzim *CaMK II* (*calmodulin-dependent protein kinase II*), yaitu enzim yang memiliki peran penting dalam regulasi glukosa (Witczak *et al.*, 2010). Enzim *CaMK II* melepaskan ikatan Ca^{2+} pada *CaM*, sehingga Ca^{2+} menstimulasi translokasi dan ekspresi *GLUT-4* ke permukaan membran sel (Raney, 2008).



Gambar 2.9 Kontraksi menyebabkan translokasi dan ekspresi *GLUT-1 & GLUT-4* (comprehensivephysiology.com)

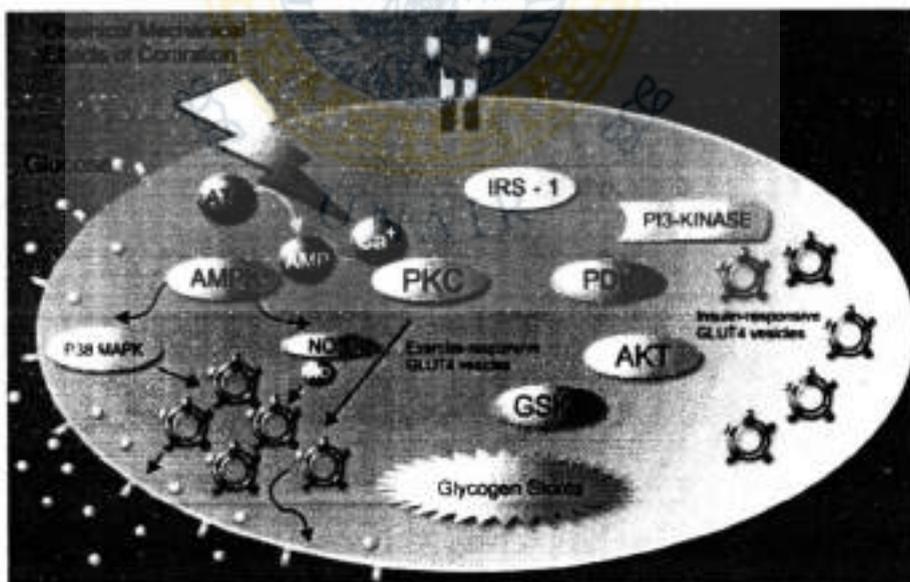
Mekanisme utama peningkatan pemakaian glukosa dari darah (*glucose uptake*) ke dalam otot saat latihan adalah melalui translokasi *GLUT-4* (Gambar 2.9). Peningkatan aliran darah ke otot selama latihan dapat juga menjadi pemicu masuknya glukosa ke dalam otot pada fase akut. Latihan juga meningkatkan jumlah reseptor insulin dan jumlah aktivitas intrinsik dari *GLUT-4* menuju membran plasma sel otot (Rajin, 2010).

Penurunan ekspresi protein *glucose transporter-1 (GLUT-1)* ditemukan pada membran sel otot rangka penderita diabetes. *GLUT-1* bertanggung jawab memfasilitasi ambilan glukosa otot pada kondisi basal. Penurunan ekspresi *GLUT-1* otot diabetes menyebabkan fasilitasi ambilan glukosa terganggu, kadar glukosa darah meningkat tinggi (hiperglikemia) pada kondisi basal (Ciaraldi *et al.*, 2005).

Setiap penggunaan oksigen untuk proses transport dan metabolisme di dalam sel (mitokondria) akan member efek samping yaitu terbentuknya oksigen

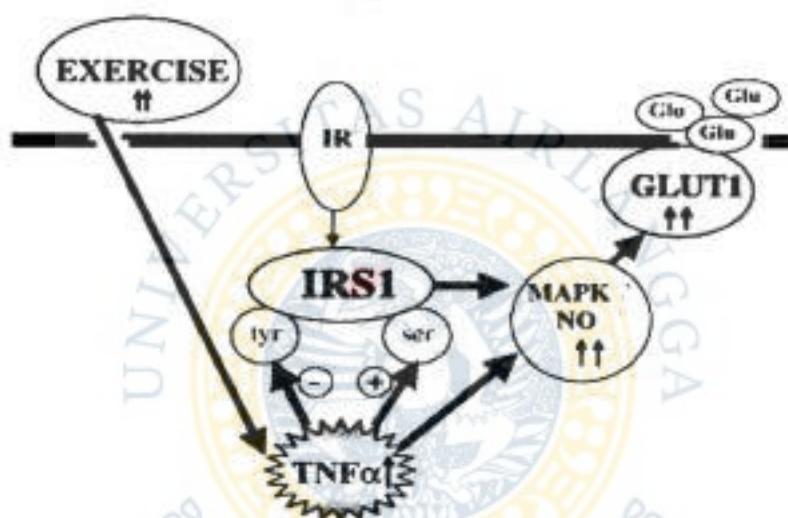
radikal; antara lain oksigen yang mempunyai electron yang tidak berpasangan, hidrogen peroksida, superoksida anion dan hidroksil radikal (Effendi, 2012). ROS akan mengaktifkan protein kinase yang selanjutnya merangsang translokasi vesikel-GLUT-4 ke membran T-tub dan sarkolema (Ristow *et al.*, 2009).

Kontraksi otot mengaktifkan *LKBI* yang menjadi prekursor utama aktifitas *AMPK* otot. *AMPK* merupakan protein kinase yang menggerakkan ambilan glukosa melalui fasilitasi *GLUT-4*. *AMPK* memfosforilasi *AS160* pada residu yang berbeda dengan fosforilasi yang dilakukan oleh sinyal transduksi insulin (Alessio, 2006). Stimulasi kontraksi menyebabkan aktifasi *AMPK* melalui meningkatnya *AMP* di sitosol (Gambar 2.10). Peningkatan *AMP* dapat diakibatkan oleh aktifitas fisik (Deshmukh *et al.*, 2009). Pada otot rangka yang berkontraksi, *NO* meningkatkan ekspresi *GLUT-4* melalui mekanisme *AMPK* yang merangsang tranlokasi *GLUT-4* (Lira *et al.*, 2007).



2.10 Mekanisme latihan dalam induksi transport glukosa (Zierath, 2002)

Kontraksi menyebabkan peningkatan pembentukan radikal oksigen. Radikal oksigen juga dapat dibangkitkan dari dalam sel, melalui pelepasan superoksida oleh mitokondria. Pelepasan superoksida distimulasi oleh *TNF α* yang dilepaskan oleh otot sendiri (regulasi autokrin) (Zhan *et al.*, 2006). Pelepasan *TNF α* merupakan respon stres dari otot yang diregang (Gambar 2.11) (Heleda *et al.*, 2005). Superoksida dan hidrogen peroksida memicu respon stres oksidatif otot yang digerakan melalui sinyal *p38 MAPK*.

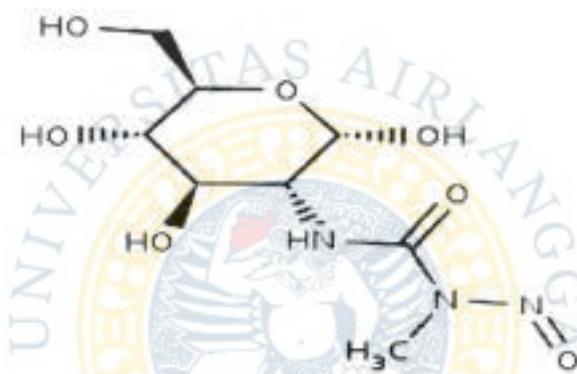


Gambar 2.11 Pengaruh *TNF α* terhadap *GLUT-1* (Heleda *et al.*, 2005)

Kondisi stres pada sel otot akibat kontraksi eksentrik akan memicu aktivasi protein stres pada sel otot. Salah satu protein stres yang teraktivasi dari kondisi stres metabolik pada sel otot adalah protein stres *p38 MAPK* (*p38 Mitogen Activated Protein Kinase*). *p38 MAPK* merupakan bagian dari sinyal stres oksidatif yang dibangkitkan melalui stimulasi fisik pada otot (Heleda *et al.*, 2005; Chambers *et al.*, 2009). Aktivasi *p38 MAPK* merangsang translokasi *GLUT-1* ke permukaan membran sel, sehingga *GLUT-1* juga dapat memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel (Xi, 2001).

2.9 Streptozotocin

Streptozotocin atau Streptozocin atau Izostazin atau Zanosar (STZ) adalah antineoplastik sintetis dan antibiotik kimia yang digunakan dalam kemoterapi kanker. Bahan aktif streptozotocin mempunyai nama kimia 2-deoksi-2-[(methylni-trosoamino)-karbonil]amino]-D-glukopiranososa (Akbarzadeh *et al.*, 2007). Streptozotocin murni memiliki pH basa. Ketika dilarutkan dalam botol dalam air suling, pH dalam larutan di dalam botol akan menjadi 3,5-4,5 karena adanya asam sitrat.



Gambar 2.12 Struktur kimia *streptozotocin* (National Library of Medicine Chem, 2007)

Streptozotocin (STZ) diperoleh dari *streptomyces achromogenes* yang dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji (Nugroho, 2010). Sel α dan δ tidak dipengaruhi secara signifikan oleh pemberian streptozotocin pada neonatal sehingga tidak membawa dampak pada perubahan glukagon dan somatostatin. Patofisiologis tersebut identik pada DM tipe II (Jackerott *et al.*, 2006). Untuk menginduksi DM tipe 2, STZ diberikan intravena atau intraperitoneal dengan dosis 100 mg/kg BB pada tikus yang

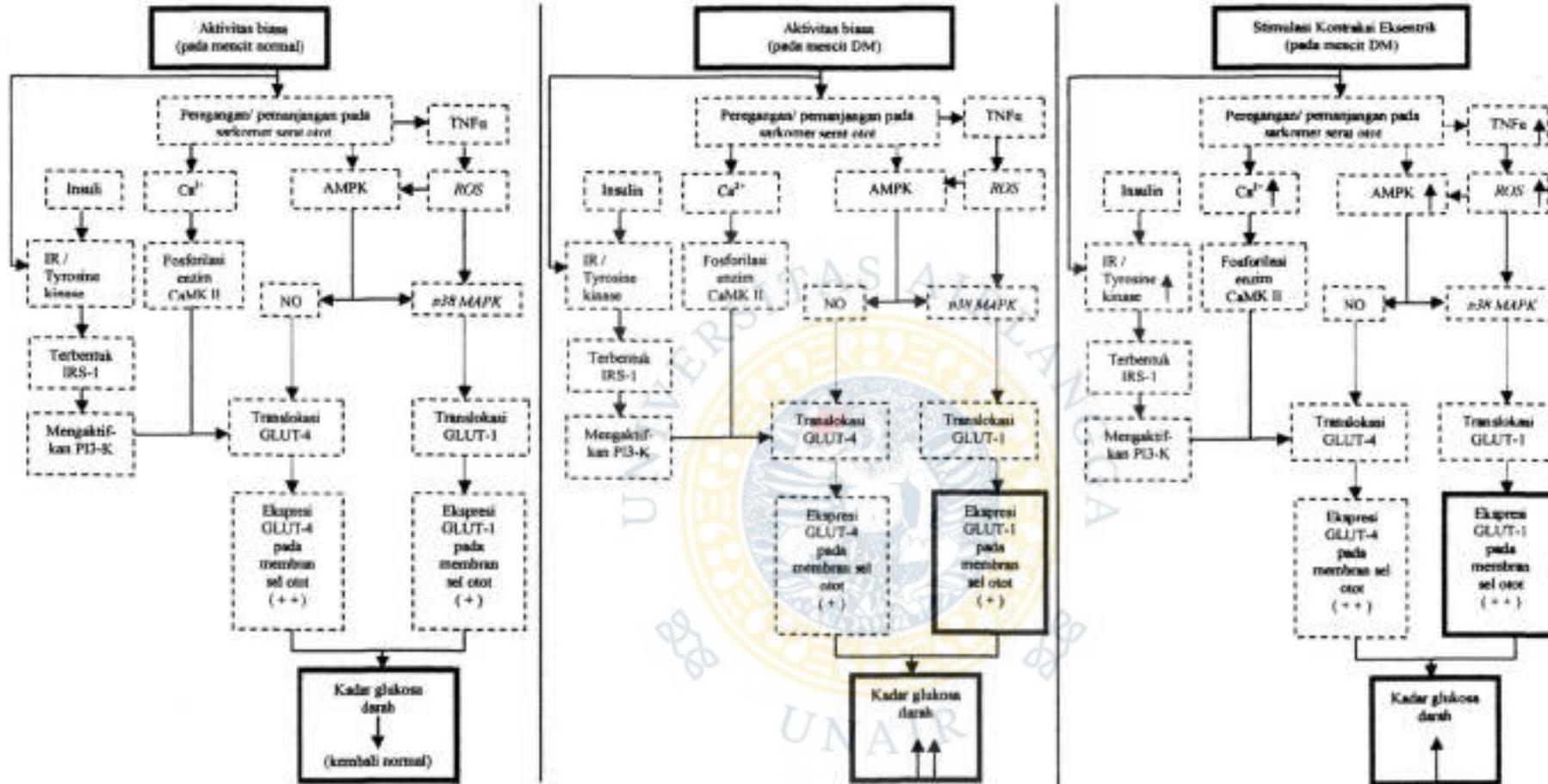
berumur 2 hari kelahiran, pada 8-10 minggu tikus tersebut mengalami gangguan respon terhadap glukosa dan sensitivitas sel β terhadap glukosa (Nugroho, 2010).

STZ menembus sel β Langerhans melalui transporter glukosa *GLUT-2*. Aksi STZ intraseluler menghasikan perubahan DNA sel β pankreas sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas (Nugroho, 2010). STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel β pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian mengakibatkan penekanan NAD^+ seluler, selanjutnya penurunan jumlah ATP, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001).



3.1 Kerangka Konseptual

3.1.1 Bagan



Gambar 3.1: Bagan pengaruh latihan eksentrik terhadap ekspresi GLUT-1 pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus yang diinduksi streptozotocin

Catatan : : diteliti
 + : jumlah GLUT-1 yang positif terekspresi pada membran sel
 ↑ : kadar glukosa tinggi
 ↓ : kadar glukosa turun (kembali normal)

3.1.2 Penjelasan

Gambar 3.1 menjelaskan mekanisme kerja dari kontraksi otot eksentrik dalam membantu merangsang translokasi dan ekspresi *GLUT-4* dan *GLUT-1* untuk memfasilitasi masuknya glukosa ke dalam sel otot. Induksi *streptozotocin* menyebabkan terjadinya defisiensi fungsi insulin akibat fungsi pankreas terganggu menyebabkan translokasi *GLUT-4* dan *GLUT-1* ke permukaan membran sel terhambat, sehingga transportasi glukosa ke dalam sel juga ikut terhambat pada penyakit diabetes mellitus.

Bagan sebelah kiri menjelaskan mekanisme dari aktivitas biasa pada mencit normal. Kadar glukosa darah turun (kembali dalam keadaan normal) setelah aktivitas biasa karena pada mencit normal, *GLUT-4* yang berperan penting dalam memfasilitasi transportasi ambilan glukosa masuk ke dalam sel.

Pemanjangan sarkomer terjadi pada saat kontraksi eksentrik. Pemanjangan ini juga menyebabkan retikulum sarkoplasma teregang dan mengeluarkan substansi ion kalsium (Ca^{2+}). Pelepasan substansi ion kalsium yang terjadi ketika kontraksi eksentrik menyebabkan konsentrasi Ca^{2+} di dalam sitoplasma sel otot meningkat. Ion kalsium di dalam sitosol meningkat pada saat kontraksi otot, makin tinggi intensitas kontraksi makin banyak ion kalsium berada di sitosol (Effendi, 2012). Peningkatan konsentrasi Ca^{2+} di dalam plasma sel (sitosol) memicu fosforilasi enzim *CaMK II* (*calmodulin-dependent protein kinase II*), yaitu enzim yang memiliki peran penting dalam regulasi glukosa. Enzim *CaMK II* melepaskan ikatan Ca^{2+} pada *CaM*, sehingga Ca^{2+} menstimulasi translokasi dan ekspresi *GLUT-4* ke permukaan membran sel (Raney, 2008).

Stimulasi kontraksi menyebabkan aktivasi *AMPK* melalui meningkatnya *AMP* di sitosol. Peningkatan *AMP* dapat diakibatkan oleh aktifitas fisik (Deshmukh *et al.*, 2009). Pada otot rangka yang berkontraksi, *NO* meningkatkan ekspresi *GLUT-4* melalui mekanisme *AMPK* yang merangsang tranlokasi *GLUT-4* (Lira *et al.*, 2007).

Kontraksi menyebabkan peningkatan pembentukan radikal oksigen. Radikal oksigen juga dapat dibangkitkan dari dalam sel, melalui pelepasan superoksida oleh mitokondria. Pelepasan superoksida distimulasi oleh *TNF α* yang dilepaskan oleh otot sendiri (regulasi autokrin) (Zhan *et al.*, 2006). Pelepasan *TNF α* merupakan respon stres dari otot yang diregang (Heleda *et al.*, 2005). Superoksida dan hidrogen peroksida memicu respon stres oksidatif otot yang digerakan melalui sinyal *p38 MAPK*.

p38 MAPK merupakan bagian dari sinyal stres yang dibangkitkan melalui stimulasi fisik pada otot (Chambers *et al.*, 2009). Aktivasi *p38 MAPK* merangsang translokasi dan ekspresi *GLUT-1* ke permukaan membran sel, sehingga *GLUT-1* juga dapat membantu memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel (Xi, 2001). Kontraksi eksentrik ini akan memberikan stimulasi pada transporter glukosa pada sel otot, sehingga dapat meningkatkan ambilan glukosa otot.

3.2 Hipotesis

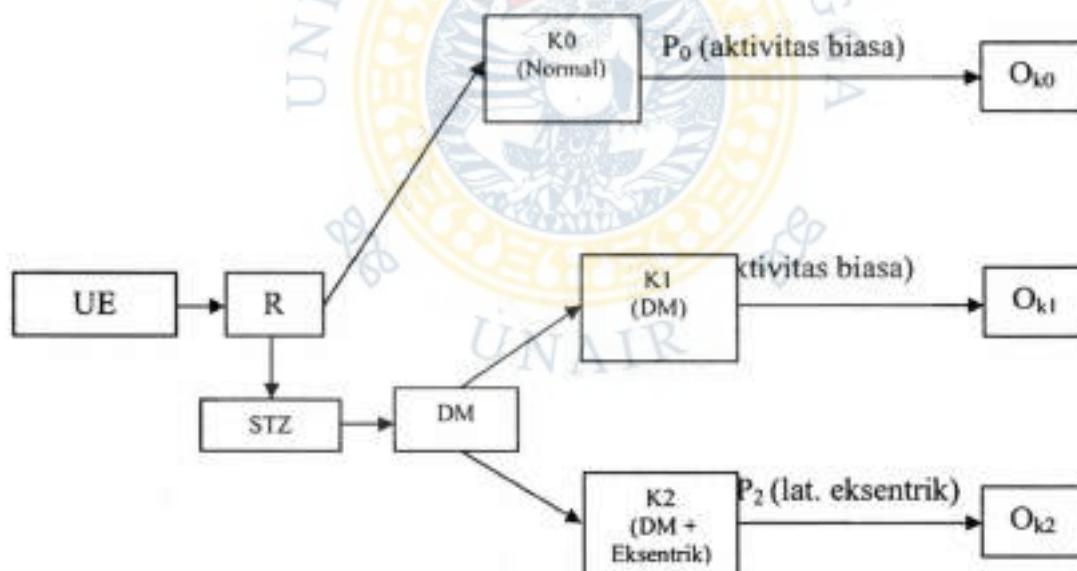
1. Peningkatan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit DM setelah melakukan latihan eksentrik
2. Ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius antara mencit DM setelah pemberian latihan eksentrik lebih banyak daripada mencit DM tanpa pemberian latihan eksentrik.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini berjenis *Experimental Laboratoris* dengan menggunakan rancangan *The Randomize Post Test Only Control Group Design* (Zainuddin, 2000), karena populasinya homogen. Rancangan eksperimen ini tanpa ada pengukuran awal (*pre test*), tetapi hanya *post test* saja. Skema rancangan penelitian yang dipakai adalah sebagai berikut:



Gambar 4.1 Desain penelitian

Keterangan :

- UE = Unit Eksperimen
- R = Random
- K0 = Kelompok kontrol mencit normal yang tidak diberi perlakuan
- K1 = Kelompok kontrol mencit DM (diinduksi *streptozotocin* dosis 150 mg/kg bb ip) yang tidak diberi perlakuan

- K2 = Kelompok mencit DM+Eksentrik (diinduksi *streptozotocin* dosis 150 mg/kg bb ip) yang diberi perlakuan (latihan eksentrik)
 P₂ = Perlakuan dengan pemberian latihan eksentrik (*running downhill*)
 Ok₁ = Pemeriksaan GDPP dan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit K1 (*post test*)
 Ok₂ = Pemeriksaan GDPP dan ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit K2 setelah perlakuan latihan eksentrik (*post test*)

4.2 Unit Eksperimen, Besar Replikasi, dan Randomisasi

4.2.1 Unit eksperimen dan besar replikasi

Unit eksperimen dalam penelitian ini adalah mencit yang berada di ruang pemeliharaan hewan Lab. Hewan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Karakteristik mencit yaitu, menggunakan mencit dewasa dengan jenis kelamin jantan usia 8-12 minggu, sehat dan aktif, berat badan antara 25±2 gram (berat badan awal sebelum induksi *streptozotocin*). Jumlah replikasi dalam setiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus *Lemeshow*:

$$n = \frac{2 \sigma^2 (Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan :

σ : rerata simpang baku penelitian terdahulu

SD₁ = 148,830 dan SD₂ = 18,539 maka $\sigma = 83$

Z_{1- α} : nilai standar deviasi untuk $\alpha = 0,05$ satu ekor = 1,645

Z_{1- β} : nilai standar deviasi untuk $\beta = 0,20 = 0,84$

$\mu_1 - \mu_2$: beda antara rerata penelitian terdahulu

$\mu_1 = 240$ dan $\mu_2 = 130$ maka $\mu_1 - \mu_2 = 110$

$$n = \frac{2 (83)^2 (1,645 + 0,84)^2}{(110)^2} = 7,03 = 8$$

Bila estimasi kegagalan 10%, maka faktor pengali ditentukan dengan rumus 1/1-f, yaitu sebesar 1/1-0,1 = 1,11 x 8 = 8,88, sehingga dibulatkan menjadi 9

ekor tiap kelompok. Total subjek penelitian 3 kelompok x 9 ekor = 27 ekor mencit, yaitu 2 kelompok mencit diabetes berjumlah 18 ekor yang ditambah 1 kelompok mencit normal 9 ekor. Kelompok mencit normal berguna sebagai pembanding kadar glukosa darah setelah induksi *streptozotocin* pada kelompok diabetes.

4.2.2 Randomisasi

Teknik randomisasi yang digunakan adalah *Simple Random* dimana pengambilan anggota replikasi dari unit eksperimen dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada dalam unit eksperimen itu (Zainuddin, 2000). Randomisasi dalam penelitian ini menggunakan tabel bilangan acak.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 1 minggu di Laboratorium Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya untuk perlakuan sampai dengan pengambilan otot gastrocnemius mencit (*Mus musculus*). Penelitian selanjutnya dilakukan selama 1 minggu di Unit Mikroskop Elektron dan Lab. Medis Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas (*independent variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah latihan eksentrik

4.4.2 Variabel tergantung (*dependent variable*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah:

1. Glukosa darah puasa (GDP)
2. Glukosa darah *post prandial* (GDPP)
3. Ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit (*Mus musculus*).

4.4.3 Variabel kendali (*control variable*)

Variabel kendali (kontrol) pada penelitian ini adalah:

1. Jangka waktu pemberian latihan eksentrik yaitu 16 menit 30 detik
2. Kecepatan treadmill yaitu 21 cm/detik
3. Sudut kemiringan treadmill yaitu -10 derajat (*down hill*)
4. Waktu observasi (pengukuran)
5. Dosis glukosa oral yang diberikan sebelum latihan (2mg/g bb mencit per pemberian).

4.5 Definisi Operasional

Di bawah ini merupakan definisi variabel yang digunakan dalam penelitian:

Tabel 4.1 Definisi operasional pengaruh latihan eksentrik terhadap ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus yang diinduksi *streptozotocin*

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat	Nilai
Bebas Latihan eksentrik	Lari menggunakan treadmill dengan sudut kemiringan -10 derajat (<i>running down hill</i>). Lama pemberian latihan yaitu 16 menit 30 detik dengan kecepatan treadmill 21 cm/detik. 16 menit 30 detik di dapat dari kapasitas kerja maksimal mencit setelah dibiarkan berlari. Intensitas maksimal yang telah diperoleh dikalikan 75% VO_2 max.	-	Treadmill (merk: <i>modified colombus treadmill</i>)	-
Tergantung Glukosa darah puasa (GDP)	Kadar glukosa darah diambil pasca induksi <i>streptozotocin</i> 2x24 jam	Kadar glukosa darah yang ditunjukkan	Glukometer (merk: <i>Easy Touch</i>)	mg/dl

	dan setelah dipuaskan selama 6 jam.	glukometer		
Glukosa darah <i>post prandial</i> (GDPP)	Kadar glukosa darah diambil pasca pemberian glukosa oral dan <i>post</i> perlakuan menit ke 60	Kadar glukosa darah yang ditunjukkan glukometer	Glukometer (merk: <i>Easy Touch</i>)	mg/dl
Ekspresi <i>GLUT-1</i>	Persen jumlah sel positif yang mengekspresikan <i>GLUT-1</i> pada membran. Sampel otot dipotong menggunakan mikrotom dan dimounting dengan antibodi spesifik <i>GLUT-1</i> untuk pemeriksaan imunohistokimia menggunakan mikroskop cahaya	Nilai atau banyaknya jumlah transporter glukosa (<i>GLUT-1</i>) yang ditunjukkan pada mikroskop cahaya 10 area luas pandang. Mengandung positif <i>GLUT-1</i> jika menunjukkan warna coklat tegas karena kromagen/zat warna menggunakan warna coklat DAB	Mikroskop Cahaya	/ μm^2

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat penelitian

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

1. Alat treadmill (merk: *modified colombus treadmill*) mencit di Laboratorium Departemen Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
2. Mikroskop cahaya
3. Timbangan digital analitik (merk: *Shimadzu*)
4. Glukometer (merk: *Easy Touch*)
5. Stopwatch (merk: *Diamond*)

4.6.2 Bahan penelitian

1. *Streptozotocin* dengan dosis 150 mg/kg bb mencit

2. Dapar sitrat 0,05 M sebagai pelarut *streptozotocin* hingga mencapai pH 4,5
3. Mencit dengan jenis kelamin jantan, sehat dan mempunyai aktivitas normal, usia 8-12 minggu, berat badan antara 25±2 gram (berat badan awal sebelum induksi *streptozotocin*).
4. Antibodi spesifik *GLUT-1*
5. Kromagen warna coklat DAB
6. Buffer formalin 10%
7. *Object glass*
8. Pisau bedah
9. Glukosa oral 2 mg/g bb mencit (*Dextrose-10%*)
10. *Spuir* 1 ml
11. Alumunium foil
12. Stick glukometer
13. Pakan, air untuk minum, sekam, dan kandang

4.7 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan pada variabel tergantung adalah mikroskop cahaya di Unit Mikroskop Elektron dan Lab. Medis Terpadu untuk mengetahui jumlah *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus dan alat glukometer untuk mengukur kadar glukosa dalam darah.

Instrumen yang digunakan pada variabel bebas dalam penelitian ini adalah alat treadmill (merk: *modified colombus treadmill*) dengan sudut kemiringan -10 derajat (*downhill*), kecepatan 21 cm/detik, dan lama waktu pemberian latihan 16 menit 30 detik (diukur menggunakan stopwatch).

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pra pelaksanaan penelitian

Peneliti menggunakan empat mencit untuk menetapkan sudut dan kecepatan maksimal yang dapat ditempuh mencit pada latihan eksentrik ini (*running down hill*). Sudut kemiringan treadmill yang dicoba pada mencit adalah -5° , -10° , dan -15° . Sudut kemiringan -5 derajat dan -10 derajat, mencit dapat berlari dengan baik. -15 derajat mencit dapat berlari dengan baik, yaitu berada di *back grade treadmill*. Peneliti menggunakan sudut kemiringan -10 agar tidak terjadi kerusakan otot karena peregangan akibat kontraksi eksentrik yang berlebihan akan merusak jaringan otot. Pengaturan kecepatan treadmill yang dicobakan pada mencit terdiri dari kecepatan 7 cm/detik, 14 cm/detik, 21 cm/detik, dan 30 cm/detik (ketiga pilihan kecepatan tersebut telah tersedia pada treadmill). Uji coba kecepatan terbaik yang dapat ditempuh mencit untuk berlari adalah kecepatan 21 cm/detik. Dosis pemberian latihan yang didapat adalah 21.14.50 menit setelah mencit dibiarkan berlari sampai mencapai kapasitas kerja maksimal. Intensitas maksimal yang telah diperoleh dikalikan $75\% \text{VO}_2 \text{max}$, ($50\% - 75\%$) (Ehrman *et al.*, 2009). Peneliti mendapatkan hasil kecepatan 16.30 menit (pembulatan dari stopwatch 16.29.50 menit). Peneliti menetapkan latihan eksentrik (menggunakan treadmill) yang diberikan pada mencit adalah berlari (*running down hill*) dengan sudut kemiringan -10 derajat dan kecepatan 21 cm/detik selama 16 menit 30 detik.

4.8.2 Pelaksanaan penelitian

Peneliti melakukan alokasi random pada mencit DM menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol DM (9 mencit) dan kelompok DM latihan eksentrik (9

mencit). Kelompok kontrol normal sebanyak 9 mencit. Pengandangan hewan coba dipisahkan satu sama lain dengan cara kandang disekat, diberi sekam, serta diberi pakan dan minum. Pakan yang diberikan adalah pakan komplit butiran atau biasa disebut pelet. Analisa pakan komplit butiran ini antara lain; kadar air 13%, protein 13%-15%, lemak 3%, serat 8%, abu 6%, calcium 0,8%, phosphor 0,6%. Minuman yang diberikan adalah air mineral kemasan. Pengandangan dilakukan pada semua kelompok dan badan mencit ditandai pada semua kelompok dengan cat rambut supaya saat penelitian dilakukan tidak tertukar dengan mencit yang lain. Pemberian sekat pada kandang bertujuan agar tidak terjadi perkelahian antar mencit dan berebut makanan atau minuman. Pencatatan berat badan setiap kelompok dilakukan sebelum induksi.

Peneliti menggunakan protokol AMDCC (*Animal Models of Diabetic Complications Consortium*) sebagai acuan untuk menginduksi mencit dengan *streptozotocin*. Mencit ditimbang berat badannya dan dipuaskan selama 4 jam sebelum diinjeksi *streptozotocin*. Kelompok DM diinduksi *streptozotocin* 150 mg/kg bb ip yang dilarutkan dalam sitrat hingga *streptozotocin* memiliki pH 4,5 dengan konsentrasi 22,5 mg/ml. Penginduksian melalui intraperitoneal mencit sesuai dengan kebutuhan dosis per ekor dan penginduksian hanya dilakukan 1 kali saja (KKAMR, 2013). Sepanjang malam pertama setelah induksi diberi dekstrosa 10% untuk menghindari hipoglikemia. 2 x 24 jam pasca induksi *streptozotocin*, kelompok yang diinduksi dibagi menjadi 2 kelompok lagi sehingga didapat masing-masing kelompok 9 mencit. Pasca induksi *streptozotocin*, berat badan mencit akan berkurang 10%-12% dari berat badan awal (Purwanto, 2012). Kelompok pertama (K1) sebagai kelompok kontrol DM tanpa perlakuan.

Kelompok kedua (K2) sebagai kelompok DM yang diberi perlakuan, yaitu diberi latihan eksentrik (*running down hill*) dengan menggunakan treadmill.

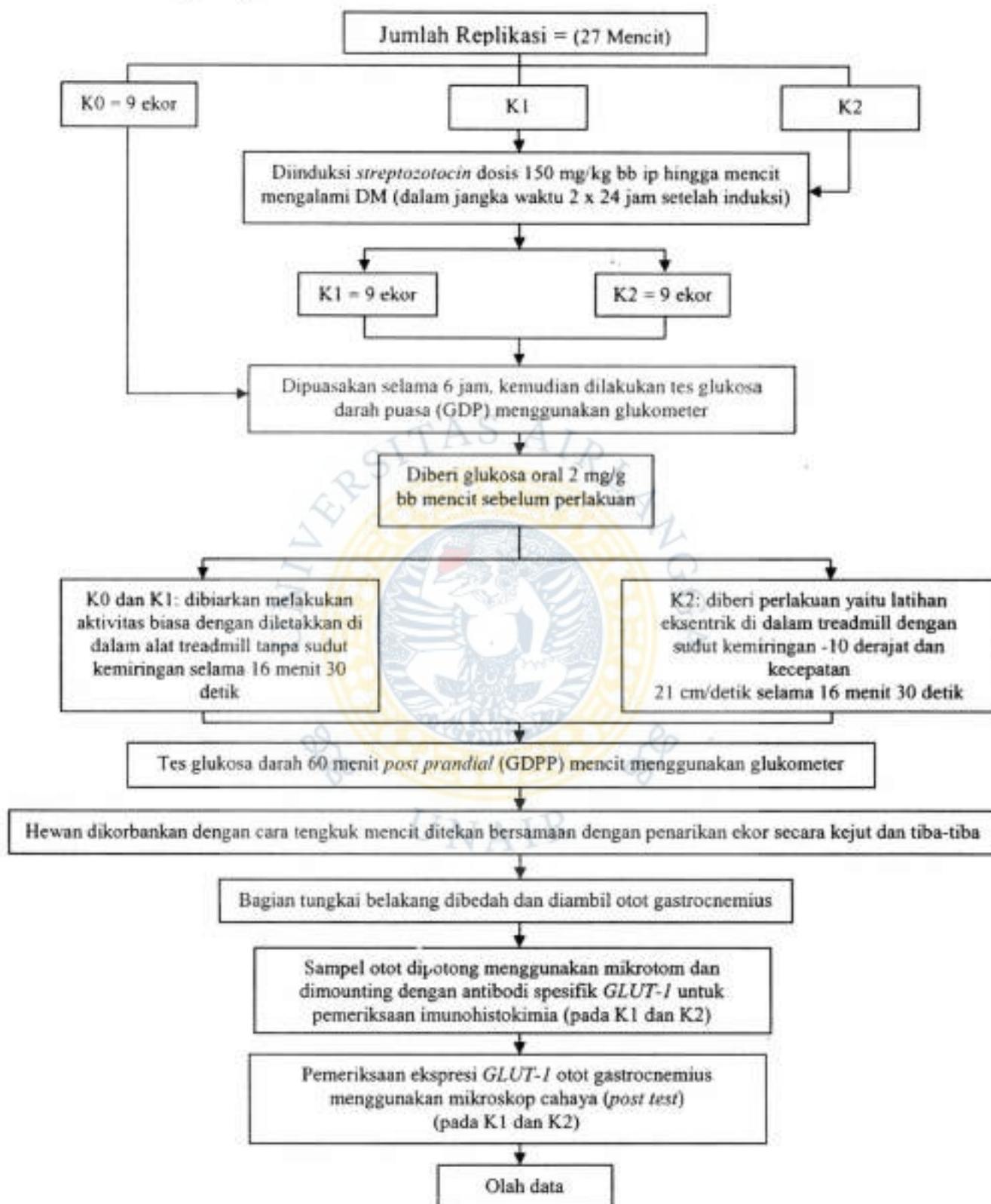
Tahap berikutnya adalah semua kelompok mencit dipuasakan selama 6 jam termasuk kelompok kontrol normal. Peneliti mengambil kadar glukosa darah puasa (GDP) dengan glukometer untuk memastikan kadar glukosa dalam darah mencit tinggi (hiperglikemia) atau sudah diabetes pada K1 dan K2. Pengambilan darah melalui ujung ekor mencit dengan cara dipotong 1 mm pada bagian ujung ekornya. Menurut Zhang (dalam Huzaimah, 2012), pasca mencit dipuasakan selama 6 jam, mencit diberi glukosa oral dengan dosis 2 mg/g bb mencit. Kadar glukosa darah *post prandial* yaitu kadar glukosa darah (menit ke 60) setelah pemberian glukosa oral pada mencit. Kadar glukosa darah dapat diambil pada menit ke-30 dan 60 setelah pemberian glukosa oral (Yan, 2013). Mencit kelompok kontrol normal (K0) dan kelompok pertama (K1) melakukan aktifitas biasa di treadmill, sedangkan mencit kelompok kedua (K2) diberi latihan eksentrik (*running down hill*) dengan menggunakan treadmill yang ada di Laboratorium Departemen Faal FK Unair. Latihan yang diberikan bersifat akut, yaitu hanya dilakukan satu kali untuk melihat efek jangka pendek latihan. Langkah selanjutnya, peneliti menimbang ulang berat badan dan mengambil kadar glukosa darah setelah perlakuan.

Pada penelitian ini, kelompok kontrol normal berguna sebagai pembanding kadar glukosa darah antara kelompok normal dengan kelompok DM setelah induksi *streptozotocin*. Pasca penginduksian *streptozotocin*, diharapkan kadar glukosa darah meningkat >200 mg/dl (hiperglikemia) daripada kelompok kontrol normal yang kadar glukosa <200 mg/dl. Kelompok DM tidak dapat

dibandingkan dengan kelompok kontrol normal karena perbedaan kadar glukosa darah yang signifikan pada kondisi glukosa darah puasa. Penderita DM tidak bisa kembali normal atau kembali semula.

Langkah terakhir adalah hewan coba dikorbankan (dimatikan) dengan metode hewan dikorbankan dengan cara tengkuk mencit ditekan bersamaan dengan penarikan ekor secara kejut dan tiba-tiba. Pengambilan otot gastrocnemius diambil pada tungkai bagian kanan dan jaringan dimasukkan pada object glass yang diisi dengan buffer formalin. Sampel otot dibuat blok parafin dan dipotong menggunakan mikrotom. Slide otot yang telah dipotong, kemudian dimounting dengan antibodi spesifik *GLUT-1* untuk pemeriksaan imunohistokimia. Pemeriksaan jumlah *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit kelompok pertama (K1) dan kelompok kedua (K2) dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pemeriksaan dilakukan oleh seorang ahli patologi anatomi menggunakan mikroskop cahaya.

4.9 Kerangka Operasional



Gambar 4.2 Kerangka operasional pengaruh latihan eksentrik terhadap ekspresi *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus yang diinduksi *streptozotocin*

4.10 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik melalui tahapan:

1. melakukan uji normalitas data
2. uji homogenitas variansi dengan menggunakan *Levene Test*
3. uji hipotesis menggunakan metode parametrik

4.11 Etik

Peneliti menggunakan prinsip etika hewan coba yaitu mencit dikorbankan dengan cara dimatikan, yaitu tengkuk mencit ditekan bersamaan dengan penarikan ekor secara kejut dan tiba-tiba (Moore, 2000). Hewan coba tidak boleh dipergunakan sebagai hewan peliharaan setelah dimanfaatkan untuk penelitian. Hewan coba langsung dikuburkan atau dibakar setelah dikorbankan.



BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

Bab ini akan diuraikan hasil dari eksperimen tentang pengaruh pemberian model latihan eksentrik terhadap ekspresi *GLUT-1* pada mencit diabetes mellitus yang diinduksi *streptozotocin*. Data hasil penelitian yang disajikan meliputi data berat badan, kadar glukosa darah mencit dan ekspresi *GLUT-1* setelah perlakuan (glukosa darah *post prandial*).

5.1 Hasil Analisis Deskriptif Data Berat Badan, Kadar Glukosa Darah Mencit dan *GLUT-1*

Berikut data berat badan, kadar glukosa darah mencit, dan *GLUT-1* masing-masing kelompok disajikan pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.1 Rerata dan simpang baku berat badan, kadar glukosa darah mencit, dan *GLUT-1* masing-masing kelompok

Kelompok	Rata-rata±SD					
	BB (gram)	GDP (mg/ dl)	GDPP (mg/ dl)	dGD (mg/ dl)	PdGD (%)	<i>GLUT-1</i> (/15625 μm^2)
Normal (K0)	26,66±1,32	136,67±33,75	164,66±31,65	27,99±19,67	22,17±18,14	-
DM (K1)	22,44±2,69	240,11±97,59	366,00±131,12	125,88±51,45	55,54±24,82	1,88±0,20
DM+ Eksentrik (K2)	22,66±1,22	357,0±139,01	377,31±138,66	20,31±31,86	6,66±10,46	3,04±0,68

Tabel 5.1 di atas didapatkan rerata berat badan sesudah diberi perlakuan. Berat badan mencit K0 mempunyai rata-rata 26,66 gram. Hasil ini lebih tinggi daripada K1 dan K2 setelah perlakuan. Rata-rata GDP mencit meningkat di atas 200 mg/dl setelah induksi STZ pada K1 ($240,11 \pm 97,59$) dan K2 ($357,0 \pm 139,01$). Rata-rata delta glukosa darah (dGD) pada K1 lebih tinggi ($125,88 \pm 51,45$) daripada K0 dan K2. Rata-rata persentase peningkatan glukosa darah pada K1 lebih tinggi ($55,54 \pm 24,82$) daripada K0 dan K2. Rata-rata *GLUT-1* yang terekspresi *GLUT-1* pada membran lebih banyak pada kelompok K2 ($3,04 \pm 0,68$) jika dibandingkan pada K1 ($1,88 \pm 0,20$).

5.2 Hasil Uji Normalitas

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa semua variabel yaitu, berat badan, glukosa darah puasa (GDP), glukosa darah *post prandial* (GDPP), delta glukosa darah (dGD), persentase glukosa darah (PdGD) dan *GLUT-1* berdistribusi normal yaitu dengan nilai $p > 0,05$. Berikut hasil uji normalitas data berat badan, kadar glukosa darah mencit, dan *GLUT-1* disajikan pada Tabel 5.2 di bawah ini:

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas (p)

Kelompok	Nilai p (sig)					
	BB	GDP	GDPP	dGD	PdGD	<i>GLUT-1</i>
Normal (K0)	0,091	0,529	0,954	0,752	0,488	-
DM (K1)	0,697	0,530	0,960	0,095	0,196	0,080
DM+Eksentrik (K2)	0,083	0,162	0,393	0,519	0,547	0,358

$p > 0,05$ menunjukkan data variabel berdistribusi normal

5.3 Hasil Uji Homogenitas

Uji homogenitas menggunakan uji *Levene test* dilakukan pada data berat badan, kadar glukosa darah mencit, dan *GLUT-1*.

Data pada variabel dikatakan memiliki varian yang homogen apabila nilai uji $p > 0,05$. Uji homogenitas pada variabel berat badan, PdGD dan *GLUT-1* menunjukkan bahwa data tidak homogen, sementara variabel dGD menunjukkan bahwa data homogen. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil uji homogenitas (p)

Levene test	Berat badan	dGD	PdGD	<i>GLUT-1</i>
Nilai p (sig)	0,025	0,058	0,006	0,022

$p > 0,05$ menunjukkan variasi data antar kelompok perlakuan homogen

5.4 Hasil Uji T Berpasangan

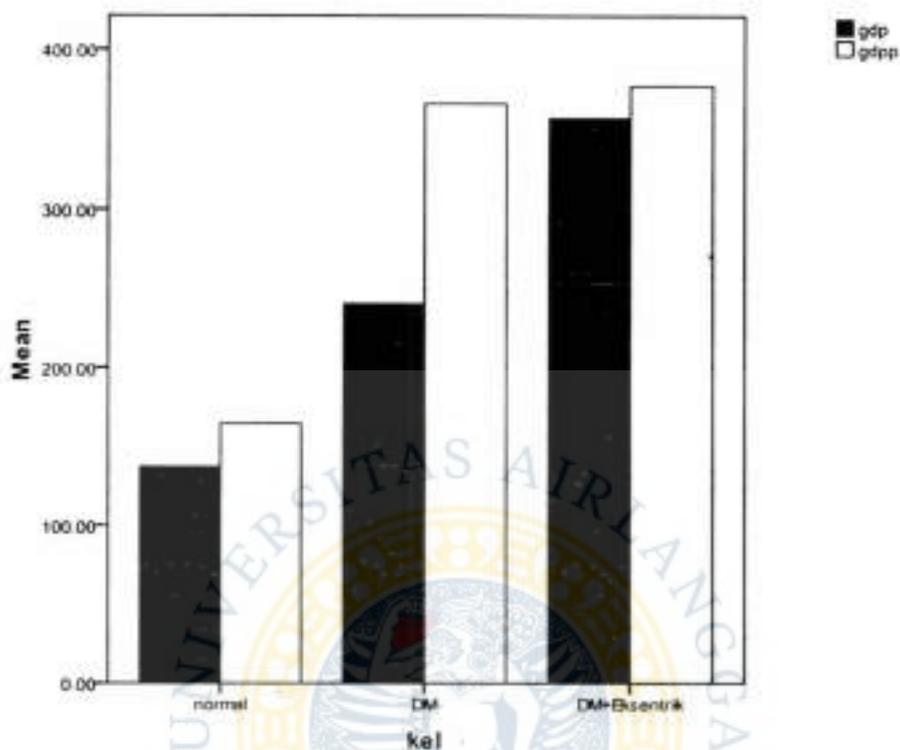
Uji T berpasangan (*Paired Sample Test*) dilakukan pada GDP dengan GDPP. Data pada variabel dikatakan memiliki perbedaan yang bermakna apabila nilai uji $p < 0,05$. Nilai $p = 0,092$ pada K2 lebih besar dari 0,05. Uji T berpasangan pada K2 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna setelah perlakuan. Hasil dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil uji T berpasangan

Uji t berpasangan GDP-GDPP	Nilai p (sig)
Normal	0,003
DM	<0,001
DM+Eksentrik	0,092

$p < 0,05$ menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna

Berikut grafik rata-rata perbedaan data GDP dengan GDPP antar kelompok



Gambar 5.1 Grafik rerata kadar glukosa darah GDP dan GDPP *post* perlakuan

5.5 Hasil Uji Beda

Uji beda menggunakan *Brown Forsythe* menunjukkan bahwa variabel yaitu, berat badan, delta glukosa darah (dGD), persentase glukosa darah (PdGD) dan *GLUT-1* memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$. Berikut hasil uji beda data berat badan, delta glukosa darah, persentase glukosa darah dan *GLUT-1* disajikan pada Tabel 5.5 di bawah ini:

Tabel 5.5 Hasil uji beda

Uji beda	Berat badan	dGD	PdGD	<i>GLUT-1</i>
Nilai p (sig)	<0,001	<0,001	<0,001	0,001

$p < 0,05$ menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna

5.6 Hasil Uji Beda antar Kelompok

Uji beda antar kelompok didapatkan bahwa ada perbedaan bermakna data berat badan K0 dengan K1 dan K2. Data dGD dan PdGD menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara K0 dengan K1 setelah perlakuan. Namun, data dGD dan PdGD menunjukkan tidak ada perbedaan antara K0 dengan K2.

Uji beda antar kelompok data berat badan antar K1 dengan K2 menunjukkan tidak ada perbedaan. Namun, data dGD dan PdGD menunjukkan ada perbedaan antara K1 dengan kelompok K2 setelah perlakuan (Tabel 5.6).

Tabel 5.6 Uji beda antar kelompok

Antar kelompok		Nilai p (sig)		
		Berat badan	dGD	PdGD
Normal	DM	0,003	<0,001	0,014
	DM+Eksentrik	<0,001	0,661	0,105
DM	DM+Eksentrik	0,973	<0,001	0,001

p<0,05 menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna

5.7 Hasil Uji Korelasi antara Delta Glukosa Darah dengan *GLUT-1* antara K1 dan K2

Uji korelasi delta glukosa dan *GLUT-1* didapatkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara delta glukosa darah dengan *GLUT-1* melalui *Korelasi Pearson*. Hubungan korelasi antara delta glukosa darah dengan *GLUT-1* adalah sangat kuat yang ditunjukkan dengan nilai p=0,047 (Tabel 5.7).

Tabel 5.7 Uji korelasi antara K1 dengan K2

	N	<i>GLUT-1</i>	Nilai p (sig)
dGD	18	-0,475	0,047

p<0,05 menunjukkan korelasi yang signifikan

Tanda negatif menunjukkan bahwa korelasi yang terjadi antara delta glukosa darah dan *GLUT-1* adalah hubungan yang sangat kuat, signifikan dan tidak searah artinya semakin banyak jumlah *GLUT-1* yang terekspresi pada membran sel otot, semakin kecil delta glukosa darahnya. Analisis dapat disimpulkan terdapat hubungan yang signifikan antara kedua variabel.



BAB 6

PEMBAHASAN

Bab ini akan diuraikan pembahasan dari hasil penelitian tentang pengaruh pemberian model latihan eksentrik terhadap *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit diabetes mellitus yang diinduksi *streptozotocin* untuk mencari alternatif jawaban terhadap masalah penelitian. Pembahasan yang disajikan meliputi bahasan kadar glukosa darah mencit dan jumlah *GLUT-1*.

Penyuntikan *streptozotocin* (STZ) dosis tinggi pada mencit K1 dan K2 memberikan efek DM. STZ menembus sel β Langerhans melalui transporter glukosa *GLUT-2*. Aksi STZ intraseluler menghasilkan perubahan DNA sel β pankreas sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas (Nugroho, 2010). STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel β pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian mengakibatkan penekanan NAD^+ seluler, selanjutnya penurunan jumlah ATP, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001). Proses kerusakan pankreas ini terjadi pada mencit K1 (DM) dan K2 (DM+Eksentrik). Hasil pada Tabel 5.1 menunjukkan terdapat kenaikan kadar glukosa darah (>200 mg/dl), dapat dikatakan sel β pankreas terjadi

kerusakan akibat induksi STZ. Data setelah induksi STZ memiliki rata-rata kadar glukosa yang berbeda antar kelompok. Hasil analisis deskriptif GDP glukosa darah puasa mencit K1 dan K2 pasca-induksi STZ 2x24 jam ditemukan bahwa rata-rata kadar glukosa darah mengalami kenaikan menjadi $(240,11 \pm 97,59)$ dan $(357,0 \pm 139,01)$ (hiperglikemia). Kadar glukosa darah *post prandial* pada K1 dan K2 terjadi peningkatan $(366,00 \pm 131,12)$ dan $(377,31 \pm 138,66)$. Hasil uji T berpasangan pada tabel 5.4 dan gambar 5.1 didapatkan tidak ada perbedaan ($p=0,092$) antara peningkatan glukosa darah antara GDP dengan GDPP pada K2, sedangkan pada kelompok DM terdapat perbedaan ($p=0,001$) peningkatan glukosa darah antara GDP dengan GDP.

Pemberian glukosa oral pada mencit akan mengakibatkan kadar glukosa dalam darah akan meningkat. Kadar glukosa darah mencit akan turun jika mencit dalam kondisi fisiologis, yaitu jika insulin dari organ pankreas dan reseptor insulin pada sel tubuh bekerja dengan baik dalam metabolisme glukosa. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi peningkatan atau penurunan kadar glukosa darah mencit antara lain adalah aktivitas mencit, usia mencit, kerja hormon, dan faktor genetik (Guyton, 2007).

Hasil analisis data dengan perbandingan rata-rata delta glukosa darah (dGD) menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok DM dengan kelompok DM+Eksentrik ($p=0,001$). Hasil ini menjelaskan bahwa terdapat perbedaan kadar glukosa darah antara mencit DM yang tidak diberi latihan eksentrik dengan mencit

DM yang diberi latihan eksentrik. Hasil analisis data tersebut juga menunjukkan bahwa rata-rata kadar glukosa darah mencit kelompok DM lebih tinggi daripada kelompok DM+Eksentrik.

Data di atas dapat diartikan bahwa latihan eksentrik dapat memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada mencit. Kontraksi eksentrik erat hubungannya dengan metabolisme otot dan pelepasan ion Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma. Ketika terjadi kontraksi eksentrik, jembatan silang miosin melekat dan protein aktin saling menjauh sehingga terjadi pemanjangan sarkomer. Pemanjangan ini juga menyebabkan retikulum sarkoplasma teregang dan mengeluarkan substansi ion kalsium. Pemanjangan ini juga menghasilkan tegangan pada sarkomer yang melibatkan protein aktin dan miosin (Bubbico, 2010). Kedua proses fisiologi kontraksi eksentrik ini yang akan memberikan stimulasi pada transporter glukosa fasilitatif sel otot, sehingga dapat meningkatkan ambilan glukosa darah otot.

Kontraksi otot mengaktifkan *LKB1* yang menjadi prekursor utama aktifitas *AMPK* otot. *AMPK* merupakan protein kinase yang menggerakkan ambilan glukosa melalui fasilitasi *GLUT-4*. *AMPK* memfosforilasi AS160 pada residu yang berbeda dengan fosforilasi yang dilakukan oleh sinyal transduksi insulin (Alessio, 2006). Stimulasi kontraksi menyebabkan aktifasi *AMPK* melalui meningkatnya *AMP* di sitosol. Peningkatan *AMP* dapat diakibatkan oleh aktifitas fisik (Deshmukh *et al.*, 2009). Pada otot rangka yang berkontraksi, *NO* meningkatkan ekspresi *GLUT-4* melalui mekanisme *AMPK* yang merangsang tranlokasi *GLUT-4* (Lira *et al.*, 2007).

Latihan dengan kontraksi otot menyebabkan pelepasan Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma (Rose, 2005). Pelepasan substansi ion kalsium yang terjadi ketika kontraksi eksentrik menyebabkan konsentrasi Ca^{2+} di dalam sitoplasma sel otot meningkat. Peningkatan konsentrasi Ca^{2+} di dalam plasma sel (sitosol) memicu fosforilasi enzim *CaMK II* (*calmodulin-dependent protein kinase II*), yaitu enzim yang memiliki peran penting dalam regulasi glukosa. Enzim *CaMK II* melepaskan ikatan Ca^{2+} pada *CaM*, sehingga Ca^{2+} menstimulasi translokasi *GLUT-4* ke permukaan membran sel (Rose, 2005; Raney, 2008). Mekanisme selain jalur Ca^{2+} , kontraksi juga berpengaruh pada aktivasi protein di dalam sel, yaitu *p38 MAPK*.

Data *GLUT-1* memiliki rata-rata yang berbeda antar kelompok. Hasil analisis data rata-rata jumlah sel yang positif mengekspresikan *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit DM sebesar $1,88/\mu m^2$ ($SD=0,20$), sedangkan DM+Eksentrik mempunyai hasil analisis data rata-rata jumlah sel yang positif mengekspresikan *GLUT-1* pada otot gastrocnemius mencit K2 sebesar $3,04/\mu m^2$ ($SD=0,68$). Hasil uji beda antar kedua kelompok tersebut mempunyai nilai $p=0,001$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0,05$).

Hasil analisa ini sesuai dengan teori bahwa kontraksi menyebabkan peningkatan pembentukan radikal oksigen. Radikal oksigen juga dapat dibangkitkan dari dalam sel, melalui pelepasan superoksida oleh mitokondria. Pelepasan superoksida distimulasi oleh *TNF α* yang dilepaskan oleh otot sendiri (regulasi autokrin) (Zhan *et al.*, 2006). Pelepasan *TNF α* merupakan respon stres dari otot yang

diregang (Heleda *et al.*, 2005). Superoksida dan hidrogen peroksida memicu respon stres oksidatif otot yang digerakan melalui sinyal *p38 MAPK*.

Latihan dapat menginduksi ekspresi protein *TNF* yang dapat memfasilitasi masuk glukosa ke dalam sel otot. Latihan menyebabkan ekspresi *TNF α* berlebih dalam jaringan otot. *TNF α* di satu sisi dapat dihubungkan resistensi insulin, namun secara paralel dapat memfasilitasi masuk glukosa ke dalam sel otot melalui mekanisme *signaling* insulin (Heleda *et al.*, 2005). Mekanisme ini meliputi ekspresi *GLUT-1*, yang dapat dihubungkan dengan faktor-faktor lain seperti menghubungkan *MAPK* atau *NO*, yang pada akhirnya memfasilitasi penyerapan glukosa oleh jaringan otot. Mekanisme ini, kemungkinan dapat mempertahankan kadar glukosa darah normal setelah latihan meskipun keadaan resistensi insulin.

Penelitian Chambers *et al.* (2009) mengungkapkan bahwa *ROS* (*Reactive Oxygen Species*) adalah oksidan dominan bertanggung jawab untuk penyerapan glukosa pada otot yang diregang. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa *ROS* pada umumnya memediasi respon regangan. Namun, ada kemungkinan bahwa *NO* mungkin juga memediasi respon penyerapan glukosa melalui independen-insulin.

Kondisi stres pada sel otot akibat kontraksi eksentrik akan memicu aktivasi protein stres pada sel otot. Salah satu protein stres yang teraktivasi dari kondisi stres metabolik pada sel otot adalah protein stres *p38 MAPK* (*p38 Mitogen Activated Protein Kinase*). *p38 MAPK* merupakan bagian dari sinyal stres oksidatif yang dibangkitkan melalui stimulasi fisik pada otot (Chambers *et al.*, 2009). Aktivasi *p38*

MAPK merangsang ekspresi dan translokasi *GLUT-1* ke permukaan membran sel, sehingga *GLUT-1* juga dapat memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel (Xi, 2001). Peneliti berpendapat bahwa beban mekanis pada latihan eksentrik dapat meningkatkan *ROS* pada otot yang pada gilirannya merangsang aktivitas protein kinase dan mengakibatkan peningkatan penyerapan glukosa. Inilah sebabnya, latihan eksentrik dapat meningkatkan aktivasi *p38 MAPK* sehingga *GLUT-1* yang ada di dalam sel terekspresi ke membran sel otot. Kondisi tersebut terjadi pada kelompok DM dan kelompok DM+Eksentrik pada penelitian ini. Kelompok DM dengan perlakuan aktivitas biasa jumlah *GLUT-1* yang terekspresi pada membran lebih sedikit daripada kelompok DM+Eksentrik yang diberi perlakuan latihan eksentrik. Semakin otot teregang secara eksentrik, *GLUT-1* yang dihasilkan semakin banyak jumlahnya pada membran sel.

Penelitian *in vitro* yang dilakukan Kinandita (2012), menghasilkan jumlah ekspresi yang berbeda-beda antara perlakuan kontraksi dengan perlakuan peregangan. Penelitian yang digunakan adalah otot diregang dan dikonstraksikan dengan beban. Hasil penelitian peneliti ini sama-sama meningkatkan ekspresi *GLUT-1*. Otot pada keadaan *in vitro* dengan pemberian stimulasi regangan tidak dapat menimbulkan refleksi kontraksi otot karena pengaruh sistem saraf telah dihilangkan. Otot pada keadaan *in vivo* akan memberikan respon terhadap rangsangan regangan dengan refleksi kontraksi sebagai mekanisme pertahanan diri agar tidak terjadi kerusakan otot dan kemudian akan terjadi ambilan glukosa otot. Peningkatan ekspresi *GLUT-1* pada

kelompok perlakuan kontraksi lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan peregangan (Kinandita, 2012). Peneliti berpendapat bahwa saat kontraksi pada latihan eksentrik, peningkatan *ROS* terjadi sehingga memicu fosforilasi *p38 MAPK* yang merangsang ekspresi *GLUT-1* dari dalam sel ke membran sel.

Hasil penelitian dan teori yang telah dipaparkan di atas, peneliti berpendapat bahwa latihan eksentrik memiliki potensi untuk menjadi terapi bagi penderita DM. Terapi tersebut diharapkan dapat berupa program latihan bagi penderita agar kadar glukosa darah yang tinggi bisa dikendalikan, disamping menjaga pola makan dan pola hidup sehari-hari. Berbagai macam model latihan eksentrik dapat dilakukan menggunakan kontraksi eksentrik, contohnya angkat *barbell*, *dumbbell*, dll. Model latihan eksentrik pada penelitian ini menggunakan treadmill dengan sudut kemiringan. Namun perlu diketahui, kontraksi yang ekstrim dan berlebihan juga dapat menimbulkan kerusakan otot. Semua jenis kontraksi otot dapat menyebabkan *DOMS* (*delayed onset muscle soreness*), tidak terkecuali kontraksi eksentrik. Dosis pemberian latihan harus diperhatikan kegunaannya agar sel otot tidak mengalami kerusakan yang parah. Sudut kemiringan pada latihan eksentrik yang sesuai akan membantu meningkatkan ekspresi *GLUT-1*. Sudut kemiringan yang terlalu besar dan dilakukan berulang-ulang akan menyebabkan penggunaan protein dalam sel berlebih yang mengakibatkan kerusakan sel otot.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan hasil analisis data dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa latihan eksentrik dengan sudut kemiringan -10 derajat, lama pemberian latihan eksentrik 16 menit 30 detik dan kecepatan treadmill 21 cm/detik:

1. meningkatkan jumlah ekspresi *GLUT-1* yang berguna memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel pada mencit diabetes;
2. meningkatkan jumlah ekspresi *GLUT-1* lebih banyak daripada tanpa pemberian latihan eksentrik.

7.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Pemberian latihan eksentrik dapat dilakukan sebelum mencit mengalami diabetes (1 hari setelah induksi *streptozotocin*) yang berguna sebagai tindakan pencegahan sebelum terjadi diabetes pada mencit.
2. Pemberian latihan *continuous training* dapat diteliti untuk mengetahui efek jangka panjang dari pemberian latihan eksentrik terhadap ekspresi *GLUT-1* pada otot *gastrocnemius* mencit yang mengalami diabetes.
3. Eksperimen selanjutnya dapat membandingkan antara latihan eksentrik dengan model latihan lain yang melibatkan jenis kontraksi otot. Peneliti dapat

menggunakan latihan konsentrik dan isometrik pada mencit. Ketiga latihan tersebut dapat dibandingkan, latihan mana yang lebih cepat meningkatkan ekspresi *GLUT-1*.

4. Peneliti dapat melakukan eksperimen untuk meneliti otot mencit yang telah diberikan latihan eksentrik sesaat guna membuktikan adanya ekspresi *GLUT-4* pada sel otot mencit. Peneliti dapat membandingkan peningkatan antara ekspresi *GLUT-4* dan *GLUT-1*.



DAFTAR PUSTAKA

- Akbarzadeh, A., Norouziyan, D., Mehrabi, M.R., Jamshidi, Sh., Farhangi, A., Verdi, A.A., Mofidian S.M.A. and Rad, B.L. 2007. "Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats". Department of Pilot Biotechnology of Pasteur Institute of Iran. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. Vol. 2, pp. 60-64.
- Alessio, H.M. and Hagerman, A.E. 2006. *Oxidative Stress, Exercise and Aging*. Imperial College Press: London.
- American Diabetes Association (ADA). 2012. "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus". (Diakses 4 November 2012, http://care.diabetesjournals.org/content/27/suppl_1/s5.full.pdf+html).
- Bellafore, M.F., Cappello, D., Palumbo, F., Macaluso, A., Bianco, A., Palma, F.F. 2007. "Increased Expression of Titin in Mouse Gastrocnemius Muscle in Response to an Endurance-Training Program". *European Journal of Histochemistry*. Vol. 51, pp. 119-124.
- Bompa, T.O. 1994. *Theory and Methodology of Training*. Iowa : Kendall/Hunt Publishing Company 3rd Edition, pp. 14-35.
- Bubbico, A. and Kravitz, L. 2010. "Eccentric Exercise: A Comprehensive Review of a Distinctive Training Method". *IDEA Fitness Journal*. Vol. 7 No. 9, pp. 50-59. (Diakses 30 Oktober 2012, <<http://www.unm.edu/~lkravitz/Article%20folder/eccentricUNM.html>>).
- Chambers M.A., Moylan, J.S., Smith, J.D., Goodyear, L.J., and Reid, M.B. 2009. "Stretch Stimulated Glucose Uptake in Skeletal Muscle is Mediated by ROS & p38 MAPK". *The Journal of Physiology*. Vol. 587, pp. 3363-3373.
- Ciaraldi, T.P., Mudaliar, S., Barzin, A., Macievic, J.A., Edelman S.V., Park K.S. and Henry, R.R. 2005. "Skeletal Muscle GLUT-1 Transporter Proteine Expression & Basal Leg Glucose Uptake are Reduced in Type 2 Diabetes". *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 90, pp. 352-358.
- Deshmukh, A.S., Glund, S., Tom, R.Z., and Zierath J.R. 2009. "Role of The AMPK γ 3 Isoform in Hypoxia-Stimulated Glucose Transport in Glycolytic Skeletal Muscle". *AJP*. Vol. 297 No. 6, pp. E1388-E1394.

- Dunstan, D.W., Daly, R.M., Owen, N. 2002. "High-Intensity Resistance Training Improves Glycemic Control in Older Patients with Type 2 Diabetes". *Diabetes Care*. Vol. 25, pp. 1729-1736.
- Effendi, C., Santoso, K.P., Purwanto, B. 2009. *Buku Ajar Faal Sel, Cair Tubuh, Saraf Tepi, dan Otot*. Departemen Ilmu Faal, Universitas Airlangga.
- Effendi, C. dan Irwadi, I. 2012. "Translokasi Vesikel-GLUT4 Akibat Aktivitas Fisik". Seminar IAIFI Surabaya: Physiology Department Medical Faculty, Airlangga University.
- Ehrman, J.K., Gordon, P.M., Visich, P.S., Keteyian, S.J. 2009. *Clinical Exercise Physiology 2nd Edition*. Human Kinetics: United States of America.
- Ekanto, B., Sugiarto. 2011. "Kajian Teh Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam Meningkatkan Kemampuan Fisik Berenang (Penelitian Eksperimen Pada Mencit Jantan Remaja)". *Jurnal Media Ilmu Keolahragaan Indonesia*. Vol. 1 No. 4.
- Esteghamati, A., Hassabi, M., Halabchi, F., Bagheri, M. 2008. "Exercise Prescription in Patients with Diabetes Type 2". *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders*. Vol. 8, pp. 1-15. (Downloaded from <http://journals.tums.ac.ir/>, diakses pada tanggal 23 Oktober 2012).
- Fox, E.L., Bowers, R.W., and Foss, M.L. 1993. *The Physiological Basis Of Exercise and Sport Fifth Edition*. USA: Wim C. Brown Publisher.
- Ganong, W. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC: Jakarta Ed. 22 Alih Bahasa, hal. 348 - 352.
- Guyton, A.C., and Hall, J.E. 2007. *Buku Saku Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Penerbit: Buku Kedokteran EGC.
- Haan, A.D., Lodder, M.A.N. and Sargeant, A.J. 1989. "Age-Related Effects of Fatigue and Recovery from Fatigue in Rat Medial Gastrocnemius Muscle". *Quarterly Journal of Experimental Physiology*. Vol. 74, pp. 715-726. (Downloaded from Exp Physiol by guest on December 20, 2012).
- Heleda, Dror, H., Moran, Rosenzweig, Sampson, Epstein and Meyerovitch. 2005. "Physical Exercise Increases The Expression of TNF α and GLUT 1 in Muscle Tissue of Diabetes Prone *Psammomys Obesus*". *Life Sciences*. Vol. 77, pp. 2977-2985.
- Herzog, W., Leonard, T.R., Joumaa, V. and Mehta, A. 2008. "Mysteries of Muscle Contraction". *Journal of Applied Biomechanics*. Vol. 24, pp. 1-13.

- Huzaimah, N. 2012. "Pengaruh Pemberian Model Latihan Eksentrik Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes Mellitus". Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga.
- Indriyani, P., Supriyatno, H., Santoso, A. 2007. "Pengaruh Latihan Fisik Senam Aerobik Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah pada Penderita DM Tipe 2 di Wilayah Puskesmas Bukateja Purbalingga". *Media Ners*. (Diakses pada tanggal 23 Oktober 2012).
- Jackerott, M., Moldrup, A., Thams, P., Galsgaard, E.D., Knudsen, J., Lee, Y.C., Nielsen, J.H. 2006. "STAT5 Activity in Pancreatic Beta-Cells Influences The Severity of Diabetes in Animal Models of Type 1 and 2 Diabetes". *Department of Medical Biochemistry and Genetics, University of Copenhagen*. Vol. 55 No. 10, pp. 2705-12.
- Joumaa, V., Rassier, D.E., Leonard, T.L. and Herzog, W. 2007. "The Origin of Passive Force Enhancement in Skeletal Muscle". *American Journal Physiology Cell Physiology*. Vol. 294, pp. C74-C78. (Diakses 28 September 2012, <http://www.the-aps.org>).
- Kinandita, H., Purwanto, B., Asnar, E. 2012. "Pengaruh Stimulasi Fisik Terhadap Perubahan Ekspresi Protein *GLUT-1* pada Fasilitas Ambilan Glukosa Otot Diabetes". Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga.
- Kelompok Kajian Animal Modelling Research (KKAMR). 2013. "Model Hewan Coba untuk Penelitian Diabetes - Seri I".
- Koivisto, 1991. "Differential regulation of the glut1 and glut4 glucose transport by glucose and insulin in 16 muscle cells in culture". *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 266 No. 4, pp. 2615-2621.
- Kyrolainen, H., Avela, J., McBride, J.M., Koskinen, S., Andersen, J.L., Sipilä, S., Takala, T.E., Komi, P.V. 2005. "Effects of Power Training on Muscle Structure and Neuromuscular Performance". *Scand J Med Sci Sports*. Vol. 15 No. 1, pp. 58-64.
- Lieber, R.L., Shah, S. and Friden, J. 2002. "Cytoskeletal Disruption After Eccentric Contraction-Induced Muscle Injury". *Clinical Orthopaedics and Related Research, Lippincott Williams & Wilkins*. No. 403S, pp. S90-S99. (Diakses 10 November 2012, <http://muscle.ucsd.edu/More_HTML/papers/pdf/Lieber_CORR_2002.pdf>).
- Lira, V.A., Soltow, Q.A., Long, J.H.D., Betters, J.L., Sellman, J.E., and Criswell, D.S. 2007. "Nitric Oxide Increases GLUT-4 Expression and Regulates AMPK Signaling in Skeletal Muscle". *American Journal Physiology*. Vol. 293 No. 4, pp. E1062-E1068.

- Maqsalmina, M. 2007. "Pengaruh Latihan Aerobik Terhadap Perubahan VO_2 Max Pada Siswa Sekolah Sepak Bola Tugu Muda Semarang Usia 12-14 Tahun". Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro Semarang.
- Marcus, R.L., Smith, S., Morrell, G., Addison, O., Dibble, L.E., Stice, D.W., LaStayo, P.C. 2008. "Comparison of Combined Aerobic and High-Force Eccentric Resistance Exercise with Aerobic Exercise Only for People With Type 2 Diabetes Mellitus". *Journal of the American Physical Therapy Association*. Vol. 88 No. 11, pp. 1345–1354.
- McArdle, W.D., Katch, F.I. and Katch, V.L. 2010. *Exercise Physiology: Energy, Nutrition, and Human Performance 7th Edition*. Lippincott: Philadelphia.
- Media Indonesia. 2003. "Sehat: Kebugaran, Bagaimana Mencapainya?". (<http://groups.or.id/ppermail/kb/2012-December/001650.html>.)
- Moore, D.M. 2000. "Rats and Mice: Care and Management". *Laboratory Animal Medicine and Science – Series II*. ISBN: 1-55910-052-4
- Munadi dan Ardinata, D. 2008. "Perubahan Kadar Glukosa Darah Penderita Diabetes Melitus Tipe-2 yang Terkontrol Setelah Mengkonsumsi Kurma". *Majalah Kedokteran Nusantara*. Vol. 41 No. 1.
- Nugroho, A.E. 2006. "Animal Models Of Diabetes Mellitus : Pathology And Mechanism Of Some Diabetogenics". *Biodiversitas*. Vol. 7 No. 4, pp. 378-382.
- Pearce, E.C. 2002. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Penerbit: PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Purwanto, B., Sudiana, I.K., Herawati, L., Aksono, B. 2012. "Muscle Glucose Transporter 1 (*GLUT-1*) Expression in Diabetic Rat Models". *Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi*.
- Rajin, M. 2010. "Sholat Dhuha Dengan Gerakan Isometrik Predominan Untuk Meningkatkan Derajat Kesehatan Masyarakat". Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pesantren Tinggi Darul Ulum Jombang.
- Raney, M.A. and Turcotte, L.P. 2008. "Evidence for The Involvement of CaMKII and AMPK in Ca^{2+} -dependent Signaling Pathways Regulating FA Uptake and Oxidation in Contracting Rodent Muscle". *Journal of Applied Physiology*. Vol. 104, pp. 1366-1373. (Diakses 30 Oktober 2012, <<http://jap.physiology.org/content/104/5/1366.full.html#ref-list-1>>)
- Riaz, S. 2009. "Diabetes Mellitus". *Scientific Research and Essay*. Vol. 4 No. 5, pp. 367-373. (Diakses pada tanggal 3 November 2012<<http://www.academicjournals.org/SRE>>).
- Ristow, M., Oberbach, A., Birringer, M., Kiehntopf, M., Stumvoll, M., Kahn, C.R. and Bluher, M. 2009. "Antioxidants Prevent Health-Promoting

- Effects of Physical Exercise in Humans". *PNAS*. Vol. 106 No. 21, pp. 8665-8670.
- Rose, A.J. and Richter, E.A. 2005. "Skeletal Muscle Glukosa Uptake During Exercise: How is it Regulated?". *Physiology*. Vol. 20, pp. 260-270. (Diakses tanggal 30 Oktober 2012, <http://physiologyonline.physiology.org/content/20/4/260.full.html#ref-list-1>).
- Sediaoetama, A.D. 2000. *Ilmu Gizi Untuk Mahasiswa dan Profesi Jilid 1*. Dian Rakyat: Jakarta Timur.
- Sherwood, L. 2011. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. EGC: Jakarta.
- Sukmaningtyas, H., Pudjonarko, D., Basjar, E. 2004. "Pengaruh Latihan Aerobik dan Anaerobik terhadap Sistem Kardiovaskuler dan Kecepatan Reaksi". *Media Medika Indonesia*. Vol. 39 No. 2.
- Szkudelski, T. 2001. "The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of The Rat Pancreas". *Department of Animal Physiology and Biochemistry*. Vol. 50 No. 6, pp. 537-46.
- Trenell, M.I., Rooney, K.B., Sue, C.M., Thompson, C.H. 2006. "Compression Garments and Recovery from Eccentric Exercise: A P-MRS Study". *Journal of Sports Science and Medicine*. Vol. 5, pp. 106-114.
- Trinick, J. 1996. "Cytoskeleton: Titin as a Scaffold and Spring". *Curr Biol*. Vol. 6 Issue. 3, pp. 258-260.
- Wijesekara, N., Farah S.L., Thong, F.S.L., Antonescu, C.N., Klip, A. 2006. "Diverse Signals Regulate Glucose Uptake into Skeletal Muscle". *Canadian Journal Of Diabetes*. Vol. 30 No. 1, pp. 80-88.
- Williams, L. and Wilkins. 2007. *Diabetes Mellitus: A Guide to Patient Care*. Wolters Kluwer: United States.
- Willmore, J.H. and Costile, D.L. 1994. *Physiology of Sport and Exercise*. Champaign: Human Kinetics.
- Witczak, C.A., Jessen, N., Warro, D.M., Toyoda, T., Fujii, N., Anderson, M.E., Hirshman, M.F. and Goodyear, L.J. 2010. "CaMKII Regulates Contraction- but not Insulin-Induced Glucose Uptake in Mouse Skeletal Muscle". *American Journal Physiology Endocrinology Metabolic*. Vol. 298, pp. E1150-E1160. (Diakses 10 November 2012, <http://ajpendo.physiology.org/content/suppl/2010/03/12/ajpendo.00659.2009.DC1.html>).
- Wood, I.S., Trayhurn, P. 2003. "Glucose Transporters (GLUT and SGLT): Expanded Families of Sugar Transport Proteins". *British Journal of Nutrition*. Vol. 89, pp. 3-9.

- Xi, X., Han, J. and Zhang, J.Z. 2001. "Stimulation of Glucose Transport by AMP-Activated Protein Kinase via Activation of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase". *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 276 No. 44, pp. 41029-41034. (Diakses 31 Oktober 2012, <http://www.jbc.org>).
- Yan, Z. 2013. "Glucose Tolerance Test V 5". Virginia State University. Edu, USA.
- Zainuddin, M. 2000. *Metodologi Penelitian*. Surabaya.
- Zajko, W.J.C., Proctor, D.N., Fiatarone, M.A., Minson, C.T., Nigg, C.R., Salem, G.J., Skinner, J.S. 2009. "Exercise and Physical Activity for Older Adult". *Official Journal of the American College of Sports Medicine*. pp. 1510-1530.
- Zhan, M.E., Jin, S.E., Reecy, J.M. and Li1, Y.P. 2006. "TACE Release of TNF α Mediates Mechanotransduction-Induced Activation of p38 MAPK and Myogenesis". *Journal of Cell Science*. Vol. 120, pp. 692-701.



Robust Tests of Equality of Means

bb

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	14.480	2	15.214	.000

a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

bb

Games-Howell

(I) kel	(J) kel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	DM	4.22222*	1.00154	.003	1.5390	6.9055
	DM+Eksentrik	4.00000*	.60093	.000	2.4485	5.5515
DM	normal	-4.22222*	1.00154	.003	-6.9055	-1.5390
	DM+Eksentrik	-.22222	.98758	.973	-2.8838	2.4393
DM+Eksentrik	normal	-4.00000*	.60093	.000	-5.5515	-2.4485
	DM	.22222	.98758	.973	-2.4393	2.8838

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

Lampiran 2

ANALISIS DATA GLUKOSA DARAH

Tests of Normality

kel		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
gdp	normal	.184	9	.200	.935	9	.529
	DM	.197	9	.200	.935	9	.530
	DM+Eksentrik	.268	9	.061	.881	9	.162
gdpp	normal	.108	9	.200	.978	9	.954
	DM	.141	9	.200	.979	9	.960
	DM+Eksentrik	.159	9	.200	.920	9	.393
dgd	normal	.175	9	.200	.956	9	.752
	DM	.193	9	.200	.860	9	.095
	DM+Eksentrik	.172	9	.200	.934	9	.519
pdgd	normal	.162	9	.200	.931	9	.488
	DM	.197	9	.200	.889	9	.196
	DM+Eksentrik	.192	9	.200	.937	9	.547

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Paired Samples Test Kelompok normal

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 gdp - gdpp	-27.99580	19.67914	6.55971	-43.12253	-12.86907	-4.268	8	.003

Paired Samples Test Kelompok DM

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 gdp - gdpp	-125.88889	51.45737	17.15248	-165.44253	-86.33525	-7.339	8	.000

Paired Samples Test Kelompok DM+ eksentrik

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 gdp - gdpp	-20.31111	31.86489	10.62163	-44.80463	4.18241	-1.912	8	.092

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
dgd	normal	9	27.9956	19.67915	6.55972
	DM	9	125.8889	51.45737	17.15246
	DM+Eksentrik	9	20.3122	31.86577	10.62192
	Total	27	58.0656	60.37389	11.61896
pdgd	normal	9	22.1752	18.14765	6.04922
	DM	9	55.5453	24.82961	8.27654
	DM+Eksentrik	9	6.6611	10.46618	3.48873
	Total	27	28.1272	27.50864	5.29404

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
dgd	3.205	2	24	.058
pdgd	6.335	2	24	.006

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
dgd	Between Groups	62365.713	2	31182.856	23.095	.000
	Within Groups	32404.459	24	1350.186		
	Total	94770.172	26			

Robust Tests of Equality of Means

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
dgd Brown-Forsythe	23.095	2	16.022	.000
pdgd Brown-Forsythe	15.963	2	17.802	.000

a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) kel	(J) kel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
dgd LSD	normal	DM	-97.89333 [*]	17.32170	.000	-133.6436	-62.1431
		DM+Eksentrik	7.68333	17.32170	.661	-28.0669	43.4336
	DM	normal	97.89333 [*]	17.32170	.000	62.1431	133.6436
		DM+Eksentrik	105.57667 [*]	17.32170	.000	69.8264	141.3269
	DM+Eksentrik	normal	-7.68333	17.32170	.661	-43.4336	28.0669
		DM	-105.57667 [*]	17.32170	.000	-141.3269	-69.8264
Games-Howell	normal	DM	-97.89333 [*]	18.36400	.001	-148.0016	-47.7851
		DM+Eksentrik	7.68333	12.48420	.814	-25.1806	40.5472
	DM	normal	97.89333 [*]	18.36400	.001	47.7851	148.0016
		DM+Eksentrik	105.57667 [*]	20.17504	.000	52.4776	158.6757
	DM+Eksentrik	normal	-7.68333	12.48420	.814	-40.5472	25.1806
		DM	-105.57667 [*]	20.17504	.000	-158.6757	-52.4776

pdgd LSD	normal	DM	-33.37013*	8.84177	.001	-51.6186	-15.1216
		DM+Eksentrik	15.51409	8.84177	.092	-2.7344	33.7626
	DM	normal	33.37013*	8.84177	.001	15.1216	51.6186
		DM+Eksentrik	48.88422*	8.84177	.000	30.6357	67.1327
	DM+Eksentrik	normal	-15.51409	8.84177	.092	-33.7626	2.7344
		DM	-48.88422*	8.84177	.000	-67.1327	-30.6357
Games- Howell	normal	DM	-33.37013*	10.25154	.014	-60.0659	-6.6743
		DM+Eksentrik	15.51409	6.98314	.105	-2.9616	33.9898
	DM	normal	33.37013*	10.25154	.014	6.6743	60.0659
		DM+Eksentrik	48.88422*	8.98177	.001	24.5440	73.2244
	DM+Eksentrik	normal	-15.51409	6.98314	.105	-33.9898	2.9616
		DM	-48.88422*	8.98177	.001	-73.2244	-24.5440

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

Lampiran 3

ANALISIS DATA GLUT-1

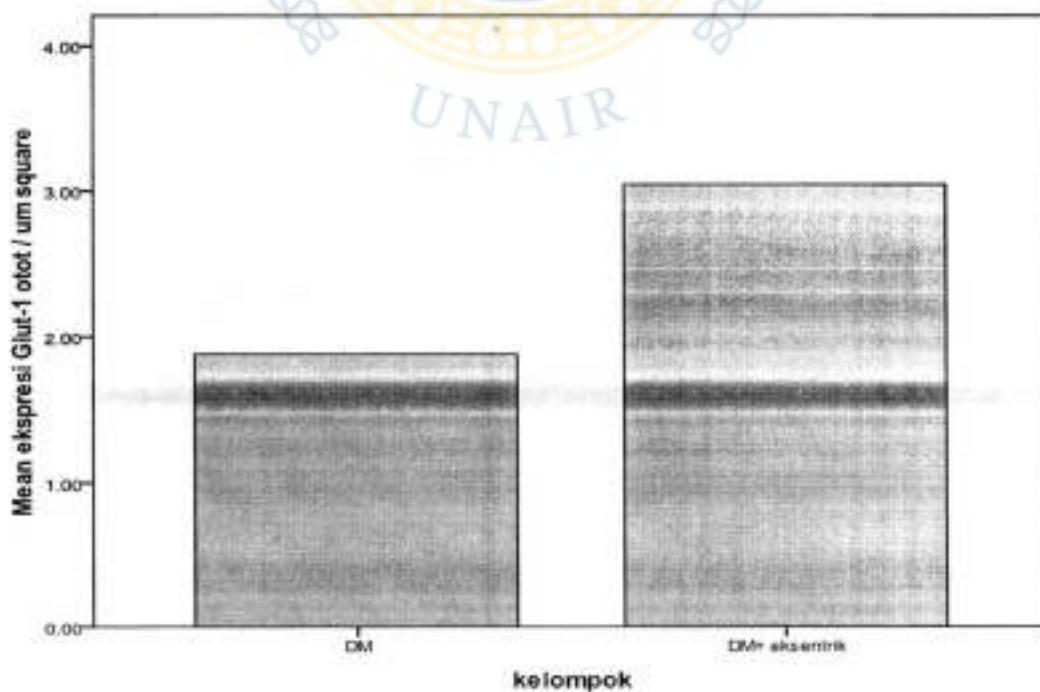
Group Statistics

kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ekspresi Glut-1 otot / um square	DM	1.8778	.20480	.06827
	DM+ eksentrik	3.0444	.67659	.22553

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ekspresi Glut-1 otot / um square	.280	9	.040	.853	9	.080
	.258	9	.087	.916	9	.358

a. Lilliefors Significance Correction



Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
esi Equal variances assumed	6.408	.022	-4.951	16	.000	-1.16667	.23564	-1.66619	-.66714
e Equal variances not assumed			-4.951	9.454	.001	-1.16667	.23564	-1.69584	-.63749

UJI KORELASI PEARSON

Correlations

		dgd	Glut1
dgd	Pearson Correlation	1	-.475*
	Sig. (2-tailed)		.047
	N	18	18
Glut1	Pearson Correlation	-.475*	1
	Sig. (2-tailed)	.047	
	N	18	18

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Lampiran 4

PROTOKOL
INDUKSI DIABETES MENGGUNAKAN *STREPTOZOTOCIN*

Tujuan : memperoleh model hewan coba diabetes

Hewan coba : mencit

Bahan :

streptozotocin (STZ)

dapar asam sitrat 0,05 M pH 4,3-4,5

sprit 1 ml

botol

aluminium foil

sukrosa atau dekstrosa 10%

Tahap persiapan

1. Hewan coba dipuasakan terlebih dahulu selama 4 jam sebelum induksi dimulai untuk mengosongkan lambung dan mengurangi resiko aspirasi
2. Hitung kebutuhan dosis induksi STZ, 150 mg/kg BB. Bila berat badan mencit 30 gram, maka kebutuhan dosis induksi adalah $(30 \times 150)/1000 \text{ mg} = 4,5 \text{ mg/ekor}$. Kalikan kebutuhan dosis per ekor dengan jumlah mencit yang akan diinduksi, misal jumlah mencit adalah 30, maka kebutuhan STZ total adalah $30 \times 4,5 \text{ mg} = 15 \text{ mg}$
3. Hitung kebutuhan dapar sitrat yang dibutuhkan dengan konsentrasi STZ 22,5 mg/ml dalam dapar sitrat. Bila dosis STZ terhitung 4,5 mg/ekor mencit, maka setiap ekor mencit akan memperoleh $4,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1} / 22,5 \text{ mg} = 0,2 \text{ ml}$ larutan STZ dalam dapar sitrat. Kalikan volume dapar sitrat per ekor mencit dengan jumlah mencit yang akan diinduksi, misal jumlah mencit 30, maka kebutuhan volume dapar sitrat total adalah $30 \times 0,2 \text{ ml} = 6 \text{ ml}$
4. Siapkan tabung dan bungkus dengan aluminium foil pada bagian luarnya

5. 15-20 menit sebelum induksi, timbang STZ yang dibutuhkan kemudian larutkan ke dalam dapar sitrat dengan volume yang telah ditentukan
6. Masukkan larutan STZ yang diperoleh ke dalam tabung berbungkus alumunium foil
7. 30 detik – 1 menit sebelum induksi segera pindahkan larutan STZ ke dalam spuit 1 ml.

Tahap induksi

1. Injeksikan larutan STZ melalui intraperitoneal mencit sesuai dengan kebutuhan dosis per ekor
2. Induksi hanya dilakukan satu kali saja
3. Berikan larutan sukrosa atau dekstrosa 10% sepanjang malam pertama setelah induksi untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection*.

(Sumber: Kelompok Kajian Animal Modelling Research, Departemen Ilmu Faal FKUA 2013)

Peneliti menggunakan sampel mencit dengan berat antara 25±2 gram (berat badan awal sebelum induksi STZ). Jumlah kelompok yang diinduksi STZ adalah 2 kelompok dengan masing-masing kelompok 9 ekor mencit. Total sampel yang diinduksi STZ adalah 18 ekor mencit. Peneliti mendapatkan larutan STZ total = 67,5 mg dengan volume dapar sitrat 3 ml.

Lampiran 5

PROTOKOL
ORAL GLUCOSE TOLERANCE TEST (OGTT)

Tujuan : mengevaluasi toleransi glukosa dengan pembebanan

Hewan coba : mencit

Bahan :

sprit 1 ml

sukrosa atau dekstrosa 10%

Tahap persiapan

1. Hewan coba dipuasakan terlebih dahulu selama 6-8 jam sebelum tes dimulai
2. Siapkan larutan dekstrosa 10% (10 gram glukosa dalam 100 ml saline)
Hitung kebutuhan volume dekstrosa per ekor dengan membagi kebutuhan dosis per ekor mencit dengan 100. Bila kebutuhan glukosa 60 mg/ekor, maka volume dekstrosa yang dimasukkan adalah $60/100 = 0,6$ ml dekstrosa 10% per ekor
3. Siapkan spuit 1 ml atau sonde untuk memasukkan dekstrosa 10 % untuk pembebanan.

Tahap pembebanan

1. Ambil contoh darah untuk pemeriksaan kadar glukosa darah puasa pada menit ke 0 (pra pembebanan glukosa)
2. Masukkan larutan dekstrosa 10% melalui oral.

Tahap Observasi

Ambil contoh darah untuk pemeriksaan kadar glukosa darah bisa dilakukan pada menit ke-30, ke-45, ke-60 (post pembebanan glukosa).

(Sumber: Kelompok Kajian Animal Modelling Research, Departemen Ilmu Faal FKUA 2013)

Peneliti menggunakan tes oral dan menggunakan dekstrosa 10% untuk pembebanan glukosa. Waktu yang dilakukan pada pemeriksaan kadar glukosa adalah menit ke-60.

Lampiran 6

PROTOKOL
LATIHAN MENGGUNAKAN TREADMILL

Tujuan : memperoleh model hewan coba dengan *running downhill treadmill*

Hewan coba : mencit

Bahan :
modified Columbus standard treadmill
sekat lintasan
motor dengan empat kecepatan
busur derajat
stopwatch

Tahap persiapan (penentuan KKM)

1. Posisikan treadmill pada besar sudut deklinasi/ inklinasi yang diinginkan. Sudut deklinasi untuk memperoleh efek eksentrik, sudut inklinasi untuk memperoleh efek konsentrik. Besar sudut untuk latihan sebaiknya $0-10^0$ pada kecepatan ringan sampai sedang (jika sudut lebih, dapat mengakibatkan kerusakan otot)
2. Uji coba treadmill dengan melakukan standarisasi kecepatan dengan ketentuan sebagai berikut: kecepatan rendah (14 cm/detik), kecepatan sedang (21 cm/detik) dan kecepatan tinggi (30 cm/detik)
3. Pastikan tidak ada kotoran pada lantai treadmill yang berpotensi mengganggu laju lari mencit
4. Periksa kembali kondisi mencit terutama kaki (jangan sampai ada cacat, tanda radang, luka yang dapat mengganggu gerakan mencit)
5. Mencit diletakkan ke dalam lintasan lari individual treadmill (diamati oleh seorang observer sebaiknya diikuti maksimum 4 ekor mencit pada lintasan berbeda). Pastikan lebar lintasan lari sesuai dengan badan mencit dengan menggeser sekata ke kanan atau ke kiri

6. Biarkan mencit berada dalam lintasan lari dalam kondisi treadmill tidak berjalan selama 1 menit
7. Mulai jalankan treadmill pada kecepatan rendah selama 2 menit dan terus amati pergerakan mencit. Mencit beberapa kali akan menuju ke backgrid karena penyesuaian
8. Menit ke-3, segera ubah kecepatan treadmill ke sedang dan pertahankan selama mungkin sampai kerja maksimal mencit tercapai. Catat waktu tempuhnya sebagai kapasitas kerja maksimal (100%) sebagai acuan untuk menentukan dosis latihan.

Tahap latihan inti

1. Posisikan treadmill pada besar sudut inklinasi/ deklinasi yang diinginkan. Misalnya sudut inklinasi 5° untuk efek konsentrik
2. Mencit diletakkan ke dalam lintasan lari individual treadmill (diamati oleh seorang observer sebaiknya diikuti maksimum 4 ekor mencit pada lintasan berbeda). Pastikan lebar lintasan lari sesuai dengan badan mencit dengan menggeser sekata ke kanan atau ke kiri.
3. Biarkan mencit berada dalam lintasan lari dalam kondisi treadmill tidak berjalan selama 1 menit
4. Mulai jalankan treadmill pada kecepatan rendah selama 2 menit dan terus amati pergerakan mencit. Mencit beberapa kali akan menuju ke backgrid karena penyesuaian
5. Menit ke-3, segera ubah kecepatan treadmill ke sedang dan pertahankan selama durasi waktu yang telah ditentukan berdasarkan kapasitas kerja maksimal (KKM)
6. Amati dan catat variabel yang dikehendaki.

(Sumber: *Kelompok Kajian Animal Modelling Research, Departemen Ilmu Faal FKUA 2013*)

Peneliti menggunakan sudut deklinasi dengan sudut -10° untuk efek eksentrik. Kecepatan yang digunakan dalam penelitian adalah 21 cm/ detik. Variabel yang diteliti adalah *GLUT-1* pada otot gastrocnemius setelah pemberian eksentrik.

Lampiran 7

PROTOKOL
PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA (DEPARAFFINISASI)

1. XYLOL : 3-5 MENIT
2. XYLOL : 3-5 MENIT
3. ETHANOL ABSOLUT : 1-2 MENIT
4. ETHANOL ABSOLUT : 1-2 MENIT
5. ETHANOL ABSOLUT : 1-2 MENIT
6. ETHANOL : 70%
7. ETHANOL : 70%
8. CUCI AIR (AQUABIDEST), BERSIHKAN PINGGIR SLIDE DENGAN TISU
9. H₂O₂ : 5 MENIT
10. CUCI AIR 3X
11. CUCI PBS 3X, BERSIHKAN PINGGIR SLIDE DENGAN TISU
12. MONOKLONAL Ab (1:50) -- 2 TTS Ab (SPET INSULIN) : 1 ML
DILUENT : 25 MENIT
13. CUCI PBS 3X, BERSIHKAN PINGGIR SLIDE DENGAN TISU
14. LARUTAN A : 30 MENIT
15. CUCI PBS 3X, BERSIHKAN PINGGIR SLIDE DENGAN TISU
16. LARUTAN C&B --- 1 TTS (C) : 49 TTS (B) : 3-10 MENIT (SAMPAI COKLAT) DITEMPAT GELAP (DITUTUP KORAN)
17. CUCI PBS 3X
18. CUCI AQUABIDEST 3X, BERSIHKAN
19. MEYER HEMATOXILIN : 6-15 MENIT
20. CUCI AIR KRAN DENGAN PIPET, KMD DIRENDAM DI AIR KRAN 10 MENIT
21. KERINGKAN --- MOUNTING

(Sumber: UNIT MIKROSKOPIK ELEKTRON FKUA 2013)

Lampiran 8

DOKUMENTASI PENELITIAN**I. INDUKSI *STERPTOZOTOCIN***

Gambar (a) : Mencit ditimbang dengan timbangan digital dan dipuasakan



Gambar (b) : STZ ditimbang sesuai dengan kebutuhan dosis dengan menggunakan timbangan digital analitik yang kemudian dibungkus dengan alumunium foil



Gambar (c) : Larutan STZ dimasukkan dalam spuit 1 ml



Gambar (d) : Injeksi larutan STZ melalui intraperitoneal mencit

2. ORAL GLUCOSE TOLERANCE TEST (OGTT)

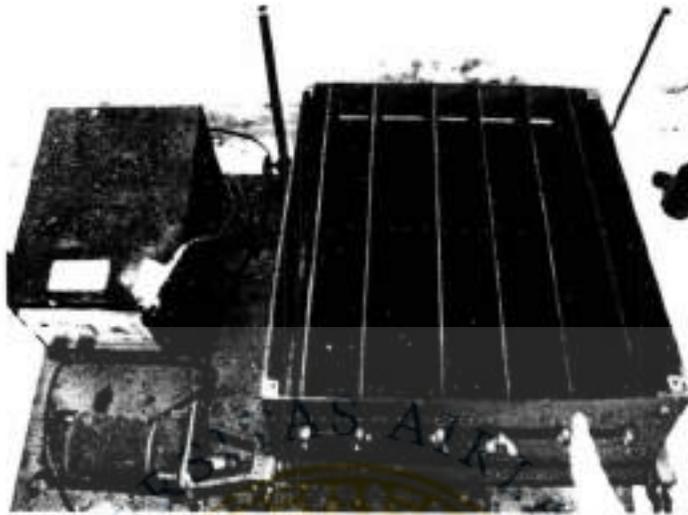


Gambar (a) : Mencit dipuaskan sebelum diberi pembebanan glukosa



Gambar (b) : Pembebanan glukosa yaitu dengan dekstroza 10% melalui oral

3. LATIHAN EKSENTRIK



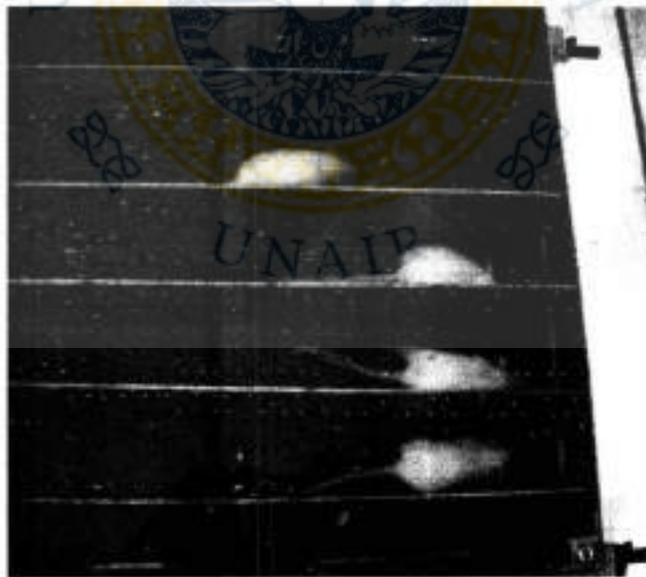
Gambar (a) : *Modified Columbus standard treadmill*



Gambar (b) : Besar sudut kemiringan treadmill yang digunakan adalah -10°



Gambar (c) : Motor kecepatan treadmill dengan pilihan (14 cm/detik), (21 cm/detik) dan (30 cm/detik)



Gambar (d) : Mencit diletakkan ke dalam lintasan lari individual treadmill

4. PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA



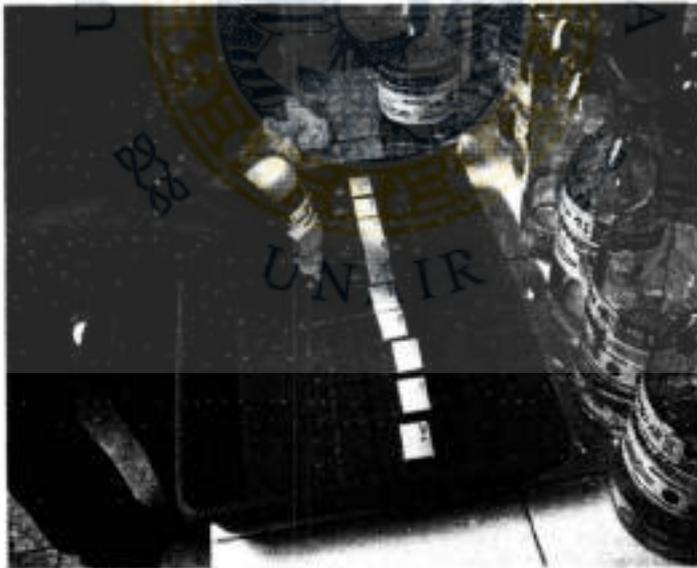
Gambar (a) : Otot yang sudah berbentuk blok parafin



Gambar (b) : Slide direndam pada H_2O_2

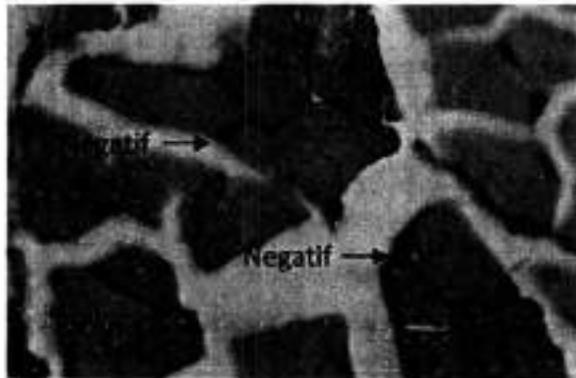


Gambar (c) : Slide dibersihkan dengan tisu



Gambar (d) : Slide diberi monoklonal

4. GLUT-1 PADA MEMBRAN SEL



Gambar (a): *GLUT-1* yang terekspresi pada membran pada kelompok normal



Gambar (b): *GLUT-1* yang terekspresi pada membran pada kelompok DM



Gambar (c): *GLUT-1* yang terekspresi pada membran pada kelompok DM+Eksentrik

Lampiran 9



UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN
DEPARTEMEN BOKIMIA KEDOKTERAN

Kampus A Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131
 Telp. 031-5020251, 5030252-3 ext 139,140,177 Faks. 031-50224
 Website: <http://www.fk.unair.ac.id> - E-mail: biokimia@fk.unair.ac.id

No. : 60/UN3.1.1/BK/PPd/2013

Surabaya, 3 April 2013

Lamp : -

Hal : Permohonan ijin melakukan penelitian
 Mahasiswa Prodi Magister FK Unair.
 An: Havid Yusuf

Kepada Yth.
 Dekan
 U,p Wakil Dekan I
 Fakultas Kedokteran
 Universitas Airlangga
 Surabaya

Sehubungan dengan surat Saudara No: 109/UN3.1.1/PPd.S2/2013 tertanggal 26 Maret 2013 perihal tersebut pada pokok surat, pada prinsipnya kami tidak berkeberatan, namun kepada yang bersangkutan diminta terlebih dahulu menemui Ketua Departemen Biokimia Kedokteran untuk koordinasi.

Demikian atas perhatian Saudara kami sampaikan terima kasih

Ketua Departemen Biokimia Kedokteran
 Fakultas Kedokteran Unair

Edhi Rianto, dr.,MS.
 NIP. 19510503 1978 02 1001

Lampiran 10



UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIT MIKROSKOP ELEKTRON DAN LABORATORIUM MEDIS TERPADU

Kampus A Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 47, Surabaya 60131

Telp.031-5020251, 5030252-3 Faks.031-5022472 Website : <http://www.ira.uin-suka.ac.id>

No : 0047/UN3.1.1/ PPD.S2/ME/2013 Surabaya, 28 Maret 2013
Lampiran : -
Hal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.

Wakil Dekan I
Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Dengan hormat

Menindaklanjuti surat Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga tanggal 26 Maret 2013 nomor : 108/UN3.1.1/PPd.S2/2013 perihal tersebut dalam pokok surat, maka dengan ini kami sampaikan bahwa pada prinsipnya kami tidak berkeberatan dan memberikan ijin bagi mahasiswa Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas nama :

No.	NIM	Nama	Judul Penelitian
1.	011145003	Hafid Yusuf	"Pengaruh Latihan Eksentrik Terhadap Ekspresi GLUT-1 Pada Otak Gastrocnemius Mencit Diabetes Mellitus Yang Dinduksi Streptozotocin"

untuk melakukan penelitian Tesis di Unit Mikroskop Elektron dan Lab. Medis Terpadu FK UA.

Demikian atas perhatian dan kerjasamanya kami sampaikan terima kasih

Unit Mikroskop Elektron
dan Lab. Medis Terpadu
Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Ketua

Dr. I Ketut Sudiana
NIP. 195507051980031005

Tembusan Yth. :

- Kaprodi Ilmu Kesehatan Olahraga
- Prof. R. Soedarmo Djojonegoro, dr., AIF (Pembimbing Ketua)
- Mahasiswa yang bersangkutan

Lampiran 11



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 019/EC/KEPK/FKUA/2013

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL :

**"PENGARUH LATIHAN EKSENTRIK TERHADAP EKSPRESI *GLUT-1*
PADA OTOT GASTROCNEMIUS MENCIT DIABETES MELLITUS YANG DIINDUKSI
STREPTOZOTOCIN"**

PENELITI UTAMA :

Havid Yusuf

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

Laboratorium Biokimia FK Unair dan Unit Mikroskop Elektron dan Lab. Medik Terapan

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Surabaya, 23 Mei 2013

KETUA



[Signature]
Prof. M. Sajid Darmadipura, dr., SpS, SpBS