

**MAJALAH  
FARMASI AIRLANGGA**  
(Airlangga Journal of Pharmacy)

ISSN 0852-1050

VOL.8 No.1, APRIL 2010



ENERBIT  
AKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

Editorial  
(Volume 8 No.1 April 2010)

Pada edisi kali ini Majalah Farmasi Airlangga menyuguhkan sejumlah artikel yang sangat berguna untuk menambah pengetahuan dan pustaka bagi kita semua dalam mengembangkan keilmuan yang ditekuni. Redaksi meminta maaf kepada para kontributor dan pembaca karena keterlambatan penerbitan. Hambatan penerbitan semacam ini akan dapat diatasi jika partisipasi kita semua dalam menulis dan membina majalah kita ini ditingkatkan. Oleh karena itu Redaksi mengharapkan sumbangan artikel dari berbagai bidang kajian dalam lingkup ilmu kefarmasian, agar majalah ini bisa kita manfaatkan bersama.

Pada nomor ini redaksi mengemukakan hasil-hasil penelitian pada bidang Farmasi Komunitas yang diawali artikel mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi kepatuhan penggunaan obat anti tuberkulosis empat FDC (Fixed Dose Combination). Menarik untuk dikaji bahwa ternyata sebagian besar penderita masuk ke dalam kelompok kepatuhan tinggi dan sebagian kecil saja yang masuk kelompok patuh. Ternyata faktor pengetahuan dan persepsi penderita terhadap penyakitnya yang mempengaruhi tingkat kepatuhan penderita dalam menjalani pengobatan. Selain artikel di bidang komunitas, nomor ini juga memuat artikel hasil penelitian laboratoris antara lain laporan tentang stabilitas injeksi kering metropenem *repacking*, pengaruh posisi gugus nitro pada sintesis N-(4-nitrobenzoil)tiourea, kinetika Peruraian Amoksisilin dan N-benzoil-amoksisilin yang ditetapkan secara kolorimetri dan sejumlah artikel menarik lainnya yang sangat bermanfaat untuk dikaji.

Akhirnya redaksi mengucapkan banyak terima kasih kepada para penyumbang artikel dan masih sangat mengharap kiriman artikel dari berbagai kajian ilmu dalam ilmu Farmasi.

Surabaya, April 2010

Redaksi

**MAJALAH FARMASI AIRLANGGA**  
**Volume 8 Nomor 1 2010**

**DAFTAR ISI**

	Hal
Editorial.....	i
Daftar Isi Majalah Farmasi Airlangga Vol.8 No.1 April 2010 .....	ii
Analisis Terhadap Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kepatuhan Penggunaan Obat Anti Tuberkulosis Empat FDC (Fixed Dose Combination) <b>Ranti Martha Apriani, Fasich, Umi Athijah</b> .....	1
Studi Perbandingan Stabilitas Injeksi Kering Meropenem Repacking pada Suhu Kamar antara Produk Inovator, "Paten X" dan "Paten Y" <b>Tri Widiandani</b> .....	10
Pengaruh Gugus Nitro pada Posisi Para (p) pada Sintesis N-(4-Nitrobenzoil) tiourea <b>Suzana, Tutuk Budiati</b> .....	15
Studi Stabilitas Kimia Gendarusin A dalam Sediaan Granul Fraksi Air Daun <i>Justicia Gendarussa</i> Burm F. <b>Zamrotul Izzah, Bambang Prajogo, Achmad Radjaram</b> .....	20
Peningkatan Disolusi Ibuprofen dengan Sistem Dispersi Padat Ibuprofen - PVP K90 <b>Dini Retnowati*, Dwi Setyawan</b> .....	24
Perbandingan Kinetika Peruraian Amoksisilin dan N-benzoilamoksisilin yang ditetapkan secara kolorimetri <b>Melanny Ika Sulistyowaty, Robby Sondakh, dan Purwanto</b> .....	29
Pengaruh Vanadil Sulfat Terhadap Aktivitas <i>Glucose Transporter 4</i> Jaringan Otot dan Adiposa Mencit ( <i>Mus Musculus</i> ) yang Menderita <i>Diabetes Mellitus</i> <b>Junaidi Khotib, Lisa Gondo, Rahmad Aji, Bambang SZ, Imam Susilo</b> .....	36

**Gambar sampul:** Skema amobilisasi molekul enzim didalam pendukung nanoporous. *Credit: Eric Ackerman, PNNL.* Gambar didownload dari : <http://nanotechweb.org/>

## Pengaruh Vanadil Sulfat Terhadap Aktivitas *Glucose Transporter 4* Jaringan Otot dan Adiposa Mencit (*Mus Musculus*) yang Menderita *Diabetes Mellitus*

Junaidi Khotib<sup>1</sup>, Elisabeth Kasih<sup>1</sup>, Debra Dorotea<sup>1</sup>, Nur Palestin<sup>1</sup>, Toetik Aryani<sup>1</sup>, Imam Susilo<sup>2</sup>

- 1) Departemen Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga
- 2) Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas, Airlangga

*The present study was designed to investigate the effects of vanadyl sulphate (VS) toward both histochemistry and immunohistochemistry - related to glucose transporter 4 (GLUT4) activity - alteration of skeletal muscle and adipose tissue in diabetic mice. Forty mice were divided into five groups, which were positive control (normal) group, negative control (diabetic) group, and three groups differed by vanadyl sulphate's doses (5 mg/kg BW, 30 mg/kg BW, or 100 mg/kg BW). Mice were made in diabetic condition by two streptozotocin (STZ) inductions. The first induction, 100 mg/kg BW, was given on the first day. While the second, 50 mg/kg BW, was given on the 14<sup>th</sup> day. Diabetic condition occurred on day 21 after the first induction, shown by increasing blood glucose level from (101.00 ± 9.19) mg/dL to (155.60 ± 18.84) mg/dL. Treatment of VS was given on the 21<sup>st</sup> day. Administrations of vanadyl sulphate in several doses were significantly reduced blood glucose concentration [ $F_{(4,16)} = 13.716; p < 0.001$ ]. On the day 28, skeletal muscle and adipose tissue were harvested and checked histochemically by haematoxylin-eosin (HE) staining. The results of histochemistry showed that VS can improve an atrophy and necrosis in muscle. In adipose tissue, VS inhibits lipolysis and restores the morphology of adipocyte cells. While the results of immunohistochemistry showed that VS can increase GLUT4 translocation from cytoplasm to the surface membrane of muscle cell, therefore the activity of this protein is rising.*

**Keywords:** vanadyl sulphate, STZ, DM, GLUT4, immunohistochemistry, muscle, adipose

### PENDAHULUAN

DM merupakan sekelompok gangguan metabolik kronik, ditandai dengan adanya hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, protein, dan mengakibatkan terjadinya komplikasi kronis, termasuk mikrovaskular, makrovaskular, serta neuropati. DM dapat diklasifikasikan menjadi 2 kelompok besar, yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2 (Triplitt *et al*, 2005). Data perkiraan WHO juga menunjukkan sekitar 80% kematian akibat diabetes terjadi di negara miskin yang sedang berkembang. Negara Indonesia termasuk dalam 10 negara yang memiliki jumlah penderita diabetes terbanyak di dunia, menempati urutan keempat setelah Amerika Serikat (*World Health Organization*, 2007). Penderita DM tipe 1 mutlak memerlukan pemberian insulin eksogen seumur hidupnya untuk memperbaiki katabolisme, mencegah ketosis, dan menurunkan kadar glukosa darah (Nolte & Karam, 2001). Sementara terapi pada pasien DM tipe 2 dimulai dengan yang bersifat non-farmakologis terlebih dahulu, apabila usaha tersebut tidak berhasil, maka perlu dilakukan terapi farmakologis berupa obat anti diabetes oral (OAD). OAD yang telah digunakan sebagai terapi sampai saat ini antara lain adalah: obat golongan sulfonilurea dan non sulfonilurea (*insulin secretagogue*), biguanid dan thiazolidinedione (*insulin sensitizer*), serta *inhibitor  $\alpha$ -glukosidase* (Belfiore *et al*, 2000; Triplitt *et al*, 2005; Funk, 2006). Namun terapi dengan OAD seringkali memberikan efek samping, terjadi resistensi dan toleransi terhadap insulin atau OAD (Triplitt *et al*, 2005).

Salah satu alternatif terapi DM yang sedang banyak diteliti saat ini ialah dengan Vanadil Sulfat (VS). Senyawa ini berasal dari Vanadium (V) yang memiliki aktivitas menurunkan resistensi insulin. V, golongan logam transisi, merupakan *antidiabetic agents* yang memiliki kemampuan spesifik dalam menurunkan kondisi hiperglikemia. Dengan adanya kemampuan ini, maka V dapat bekerja dengan lebih selektif. Spesifisitas dan selektivitas senyawa ini mampu memperkecil kemungkinan efek samping yang dapat ditimbulkan. V bekerja dengan menghambat enzim *phosphotyrosine phosphatase*, baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada konsentrasi relatif tinggi. Dengan demikian, dapat meningkatkan *insulin receptor phosphorylation* dan aktivitas *tyrosine kinase*, sehingga molekul intrasel menjadi aktif dan menstimulasi *glucose transporter (insulin signaling* berjalan lebih lama) yang berakibat pada peningkatan *uptake* glukosa. Dari penelitian pendahuluan, diperoleh kesimpulan bahwa VS dapat secara efektif menurunkan kadar glukosa darah, memperbaiki kondisi atrofi dan nekrosis jaringan otot rangka serta menghentikan proses pengambilan cadangan lipid dan meningkatkan regenerasi sel-sel lemak pada jaringan adiposa mencit yang menderita DM akibat induksi STZ (Szkudelski, 2001; Arulmozhi *et al*, 2004; Arijanto, 2006; Syahriel, 2007; Rakhman, 2008).

Pada penelitian ini, difokuskan pada pengaruh VS terhadap aktivitas *glucose transporter GLUT4* dalam proses *insulin signaling*, terutama pada jaringan otot rangka dan adiposa. Analisis dilakukan dengan metode imunohistokimia menggunakan anti GLUT4 sebagai antibodi.

## BAHAN DAN METODE

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : *On Call Plus Blood Glucose Monitoring System*<sup>®</sup>, Mikrotom, *Inverted microscope* dan alat gelas

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah VS, STZ diperoleh dari Sigma, Natrium sitrat, asam sitrat, CMC Na, formalin, hematoksin eosin (Baxter), Natrium dihidrogen pospat, natrium hidrogen pospat, antibodi glukosa transporter (Abcam)

### Hewan Coba

Dalam penelitian ini digunakan mencit Balb/c yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Universitas Airlangga, dengan kriteria sebagai berikut: berjenis kelamin jantan, berumur 8 minggu, berat badan 20-30 gram dan berada dalam keadaan sehat.

### Pembuatan Phosphate buffer saline (PBS)

PBS 0,1 M dibuat dengan 30,441 gram  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  yang ditambah dengan aquadest hingga 850 mL, selanjutnya ditambah larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  3,450 gram  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dalam 250 mL aquadest sampai mencapai pH 7,4. Diambil sebanyak 900 mL larutan PBS 0,1 M yang telah dibuat lalu ditambah dengan 9 gram NaCl dan aquadest hingga 1000 mL.

### Pengenceran Antibodi *glucose transporter GLUT4 (If8)*

Konsentrasi tiap *batch* yang tersedia berkisar pada rentang antara 0,48-0,50 mg/mL. Selama penyimpanan dapat digunakan *buffer* pengawet 0,02% *sodium azide* dengan konstituen berupa 1% BSA, PBS (pH 7,4). Untuk analisis secara imunohistokimia, dilakukan pengenceran sebesar 1 : 2000.

### Prosedur Penelitian

#### Induksi DM

Mencit jantan berumur delapan minggu ditempatkan secara berkelompok dalam kandang dengan temperatur ruangan  $30 \pm 1$  °C. Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap (siklus terang dimulai jam enam pagi sampai jam enam malam). Selama penelitian, kebutuhan makanan dan minuman dijaga dalam jumlah yang berlebih. Pada hari pertama, mencit diberi injeksi STZ 100 mg/kg dalam pembawa dapar sitrat secara intraperitoneal untuk menginduksi terjadinya DM. Pada hari ke-14 diberikan injeksi kedua STZ dengan dosis 50 mg/kg. Pada hari ke-21 suspensi VS diberikan secara oral kepada kelompok perlakuan dengan dosis 5, 30, dan 100 mg/kg BB sekali sehari selama 7 (tujuh) hari. Glukosa darah diukur pada hari ke-0, 14, 21, dan 28.

#### Preparasi dan Pewarnaan Jaringan Otot dan Adiposa

Pada hari ke-28, setelah pengukuran glukosa darah, dilakukan pembedahan dan pemotongan jaringan adiposa. Jaringan kemudian difiksasi dengan *neutral*

*buffer formalin*. Setelah itu, pemotongan dan pewarnaan secara imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo. Jaringan otot rangka dan adiposa mencit yang telah diberi parafin dipotong dengan mikrotom setebal 4-5  $\mu\text{m}$  dan diletakkan pada gelas objek. Gelas objek diletakkan di tempat hangat selama 15 menit agar potongan jaringan lebih melekat pada gelas objek. Tahap awal pewarnaan jaringan otot rangka dengan *periodic acid Schiff* adalah proses deparafinasi (penghilangan parafin), dilakukan dengan mengalirkan aquadest pada potongan jaringan. Setelah itu potongan jaringan direndam dalam asam periodat selama 5 menit dan dibilas dengan aquadest. Ditambahkan reagen *Schiff* pada suhu kamar, dibiarkan selama 30 menit, kemudian dipanaskan dengan *microwave* tenaga tinggi selama 45-60 detik, hingga berwarna magenta tua. Dibilas dengan air mengalir selama 5 menit, kemudian diberi *haematoxyllin* sebagai *counterstain* selama 3 menit, lalu dicuci dengan air, *haematoxyllin* biru, dan aquadest. Tahap terakhir adalah dehidrasi potongan jaringan dengan alkohol, dibersihkan dan ditutup dengan gelas penutup. Potongan jaringan otot rangka mencit siap dianalisis. Untuk menganalisis morfologi jaringan otot dan adiposa, dibutuhkan pewarnaan rutin menggunakan pereaksi HE (Fawcett, 2002). Tahap awal pewarnaan jaringan adalah deparafinasi (penghilangan parafin), dilakukan dengan mengalirkan aquadest pada potongan jaringan. Potongan jaringan dialiri air, kemudian ditempatkan dalam *haematoxyllin* selama 5 menit, setelah itu dibilas dengan air mengalir. Potongan tersebut kemudian diberi warna biru dengan cara direndam dalam litium karbonat dan dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, potongan diletakkan di dalam asam alkohol 1% selama beberapa detik sebelum dibilas kembali dengan air mengalir dan direndam dalam eosin selama 5 menit. Setelah dibilas dengan air mengalir, didehidrasi dan dibersihkan, preparat siap digunakan.

#### Analisis preparat imunohistokimia

Hasil pewarnaan jaringan diamati di bawah mikroskop dan diambil gambarnya. Dilakukan perbandingan antara kelompok kontrol (dapar sitrat), diabetes (STZ), dengan kelompok diabetes yang diberi *treatment* VS (dosis 5, 30, dan 100 mg/kg BB), antara lain mengenai perubahan morfologis jaringan, yaitu jumlah dan ukuran sel-sel lemak pada jaringan adiposa mencit. Hasil imunohistokimia preparat jaringan otot rangka dan adiposa dengan antibodi GLUT4 menghasilkan warna yang intensitasnya akan diukur untuk mengetahui banyaknya GLUT 4 yang bereaksi dengan antibodi tersebut. Semakin banyak GLUT 4 yang bereaksi, maka intensitas warna yang dihasilkan semakin terang.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Efek VS pada kadar glukosa darah mencit yang menderita DM

Untuk mengetahui efek pemberian VS terhadap

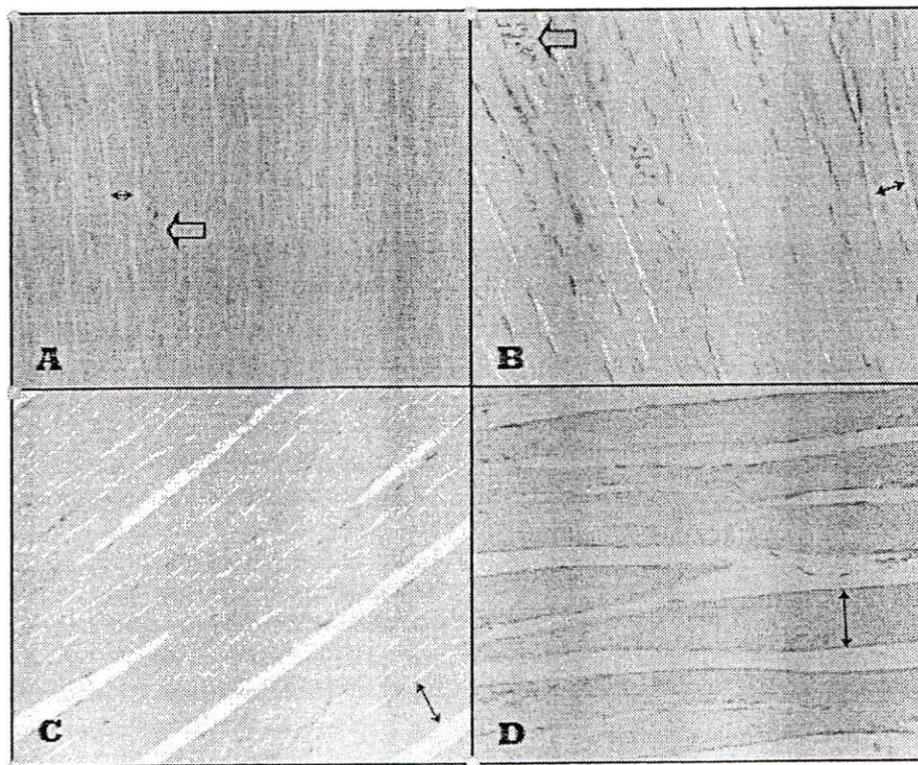
jaringan target insulin pada mencit yang mengalami diabetes selama 21 hari, maka setelah mencit mendapat injeksi STZ, diberikan suspensi VS dalam larutan CMC Na 0,6% secara oral kepada tiga kelompok perlakuan dengan dosis 5, 30, dan 100 mg/kg BB sekali sehari selama 7 hari dan larutan CMC Na kepada kontrol negatif dan kontrol positif. Perubahan kadar glukosa darah diamati pada hari ke-28. Hasil pengukuran kadar glukosa darah ditunjukkan oleh Tabel 1.

VS terbukti efektif menurunkan kadar GDA mencit dengan kondisi DM. Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-28 kelompok mencit yang mengalami diabetes dan mendapatkan *treatment* dengan VS berbagai dosis menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok diabetes yang hanya mendapatkan larutan CMC Na secara oral [ $F_{(4,16)} = 13.716$ ;

$p < 0.001$ ]. Semakin besar dosis VS yang diberikan, maka semakin besar pula efek toksisitas yang ditimbulkannya. Hal ini terbukti dengan paling banyaknya jumlah mencit yang mati pada kelompok perlakuan dosis 100 mg/kg BB. Mencit-mencit tersebut mati dehidrasi akibat diare, dapat diamati melalui konsistensi sisa feses di sekitar anus mencit yang kurang solid. VS mengandung logam Vanadium yang dapat memberikan efek osmotik dan menarik air ke dalam saluran cerna. Kondisi tersebut menyebabkan volume feses meningkat sehingga terjadi diare yang mengakibatkan dehidrasi dan berujung pada kematian. Hal ini dapat diatasi dengan mengganti senyawa vanadil dengan senyawa-senyawa organo-vanadium (Cadene *et al*, 1996; Srivastava, 2004). Namun, secara keseluruhan, VS terbukti efektif dalam menurunkan glukosa darah mencit dalam kondisi DM.

Tabel 2. Pengukuran diameter jaringan otot tungkai belakang mencit masing-masing kelompok perlakuan pada irisan membujur

Kelompok	Diameter Serabut Otot (µm) (rata-rata ± SD)	Diameter Sel Adipose (µm) (rata-rata ± SD)
Kontrol	209,17 ± 7,25	50,05 ± 2,81
DM	91,25 ± 6,22	16,45 ± 0,72
DM + VS 5	133,33 ± 4,66	28,60 ± 1,43
DM + VS 30	168,33 ± 6,13	40,04 ± 1,08
DM + VS 100	198,33 ± 10,58	49,69 ± 2,16



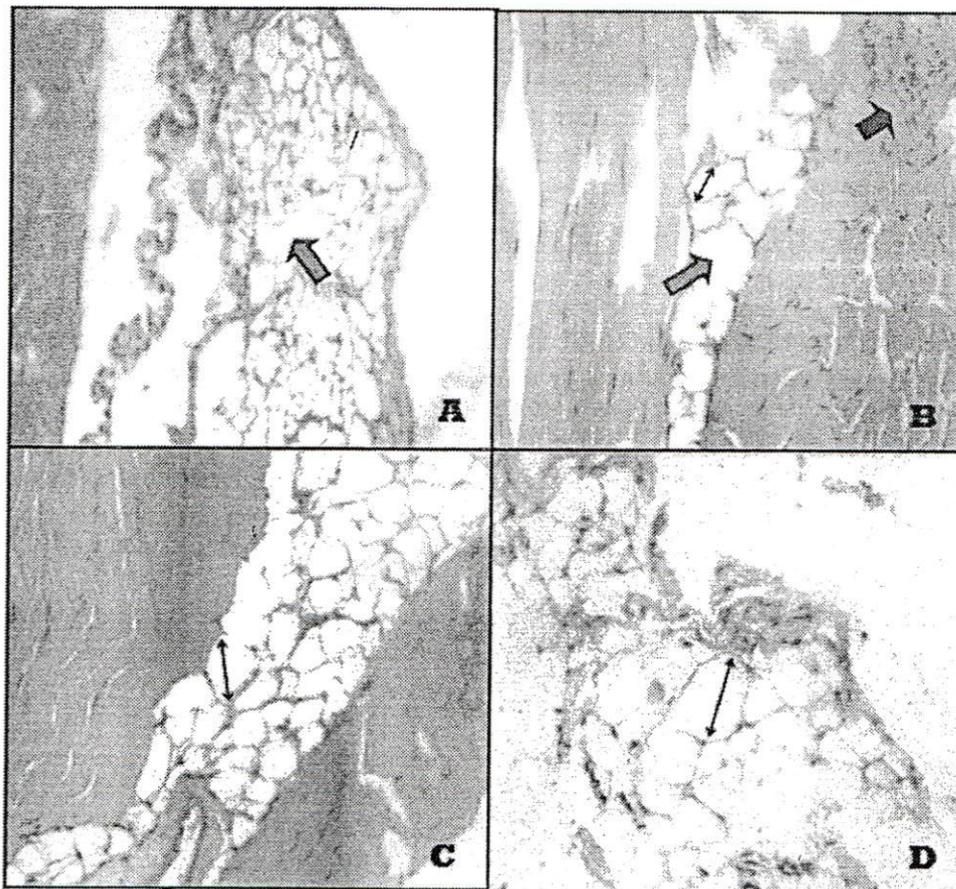
Tanda  $\Rightarrow$  : Sel-sel radang (A dan B)  
 Tanda  $\longleftrightarrow$  : Diameter serabut otot tiap-tiap perlakuan pada Gambar 5.5

Gambar 1. Penampang membujur serabut otot tungkai mencit kelompok diabetes (A), kelompok perlakuan STZ + VS 5 mg/kg BB (B), STZ + VS 30 mg/kg BB (C), dan STZ + VS 100 mg/kg BB (D) dengan perbesaran 400x

Pada gambar 2 terlihat perubahan morfologi jaringan adiposa menciit setelah pemberian VS. Pada kelompok perlakuan dosis 5 mg/kg BB, penampang melintang jaringan adiposa tampak belum mengalami perubahan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok diabetes, dimana batas antar sel tidak jelas, dengan diameter sel yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kedua dosis pemberian lainnya, dengan struktur susunan sel yang saling berdesakan dan inti sel yang lebih pipih. Seiring dengan peningkatan dosis, maka diameter sel adiposa bertambah lebar dengan batas antar sel yang semakin jelas. Rata-rata diameter sel adiposa menciit kelompok perlakuan dosis 5 mg/kg BB ialah sebesar  $(28,60 \pm 1,43)$   $\mu\text{m}$ , kelompok perlakuan dosis 30 mg/kg BB sebesar  $(40,04 \pm 1,08)$   $\mu\text{m}$ , dan kelompok perlakuan dosis 100 mg/kg BB sebesar  $(49,69 \pm 2,16)$   $\mu\text{m}$ .

Imunohistokimia merupakan proses lokalisasi antigen pada jaringan dengan menggunakan antibodi berlabel sebagai reagen spesifik melalui interaksi antigen-

antibodi yang divisualisasikan oleh suatu *marker* atau penanda seperti pewarna *fluorescent*, enzim, elemen radioaktif, ataupun emas koloid. Pada penelitian ini, dilakukan pemeriksaan imunohistokimia yang menggunakan GLUT4 sebagai antibodi. Kendala yang umum terdapat dalam proses preparasi imunohistokimia ini ialah pewarnaan *background* yang tidak spesifik, dimana penyebab utamanya ialah ikatan non imunologi antara sera imun spesifik dengan tekanan-tekanan hidrofobik dan elektrostatis pada daerah-daerah tertentu di jaringan. Namun kendala tersebut dapat diminimalisasi dengan memblok daerah tadi dengan serum normal. Aktivitas peroksidase endogen banyak ditemukan pada jaringan dan dapat dideteksi dengan mereaksikan jaringan terfiksasi dengan substrat DAB. Solusi untuk menghilangkan aktivitas tersebut ialah dengan melakukan *pre-treatment* jaringan dengan hidrogen peroksida sebelum dilakukan inkubasi di dalam antibodi primer (IHCWORLD, 2009).



Tanda  $\Rightarrow$  : Bentuk vakuola tanpa inti sebagai akibat lisisnya sitoplasma sel lemak  
 Tanda  $\Rightarrow$  : Sel-sel radang  
 Tanda  $\leftrightarrow$  : Diameter sel adiposa masing masing perlakuan pada Gambar 5.6

**Hasil analisis imunohistokimia jaringan otot**

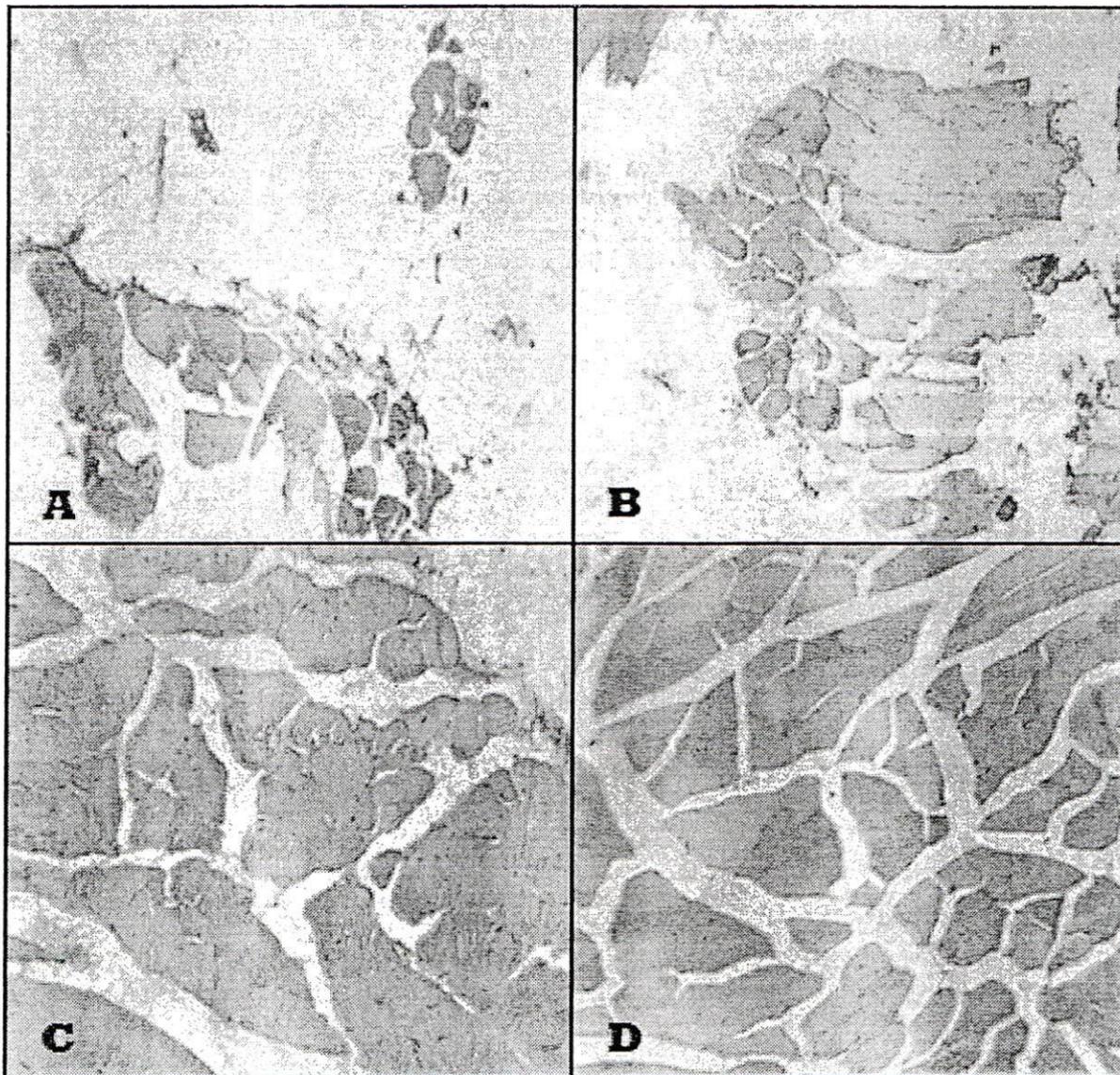
Gambar 3 menunjukkan ekspresi GLUT4 pada otot menciit yang menderita diabetes dengan atau tanpa pemberian VS. Pada jaringan otot kelompok menciit yang diberi vanadil dosis 30 mg/kg BB, sudah mulai tampak warna kecoklatan, yang berarti jumlah GLUT4 teraktivasi yang berikatan dengan antibodi sudah mulai banyak. Hal

ini menunjukkan mulai adanya perbaikan kondisi jaringan otot setelah diberikan *treatment* VS dengan dosis yang lebih tinggi. Kondisi jaringan otot yang paling mendekati normal ialah pada kelompok perlakuan dengan VS dosis 100 mg/kg BB, dimana pada preparat tampak jaringan otot memberikan warna coklat secara merata, dengan intensitas yang lebih pekat pada beberapa bagian tertentu.

Hal tersebut menandakan bahwa jumlah GLUT4 teraktivasi yang dapat terdeteksi oleh antibodi telah mengalami perbaikan sedemikian rupa sehingga sudah tampak seperti kondisi normal.

GLUT4 merupakan *transporter* glukosa yang diatur oleh insulin, yang ditemukan pada jaringan otot lurik (rangka dan jantung) serta jaringan adiposa. GLUT4 yang belum aktif berada di dalam vesikel *lipid bilayers* pada sitoplasma. Insulin akan merangsang translokasi GLUT4 dari tempat penyimpanan intraselular menuju ke

membran plasma. GLUT4 yang telah teraktivasi inilah yang dapat berikatan dengan antibodi GLUT4 yang digunakan pada pemeriksaan imunohistokimia. Fokus pemeriksaan pada penelitian ini ialah jaringan otot, karena berdasarkan pustaka diperoleh keterangan bahwa paparan senyawa-senyawa Vanadium telah terbukti dapat memperbaiki ekspresi atau translokasi protein sensitif insulin, GLUT4, pada otot lurik, yaitu otot rangka dan jantung.



Gambar 3. Irisan penampang melintang GLUT4 teraktivasi pada jaringan otot tungkai mencit menggunakan analisis imunohistokimia kelompok kontrol diabetes (A), kelompok perlakuan STZ + VS 5 mg/kg BB (B), STZ + VS 30 mg/kg BB (C), dan STZ + VS 100 mg/kg BB (D) dengan perbesaran 200x

Vanadium diyakini dapat meningkatkan aktivitas intrinsik ataupun kemampuan *targeting* GLUT4 mencapai permukaan membran plasma yang berdampak pada peningkatan ambilan glukosa (Kitamura *et al*, 1999; Elmendorf, 2002; Srivastava, 2004). Di samping itu, jaringan adiposa yang diperoleh kurang begitu baik, sehingga dikhawatirkan tidak dapat memberikan hasil imunohistokimia seperti yang diharapkan, sementara antibodi yang tersedia juga tidak cukup banyak. Adapun pengamatan intensitas warna GLUT4 yang teraktivasi pada jaringan otot dalam penelitian ini merupakan pemeriksaan secara kualitatif, karena hanya digunakan 1 sampel jaringan untuk masing-masing kelompok, sehingga kurang dapat mewakili keseluruhan kelompok penelitian. Untuk memperoleh hasil secara signifikan statistik, perlu dilakukan pemeriksaan jaringan otot seluruh mencit pada tiap-tiap kelompok.

Perbandingan luas serta intensitas daerah yang berwarna kecoklatan antar tiap kelompok menunjukkan adanya perbedaan jumlah GLUT4 pada masing-masing kelompok tersebut. Pada kelompok normal penampang melintang jaringan otot tampak berwarna coklat pekat. Hal tersebut mengindikasikan pada kondisi normal, masih banyak terdapat GLUT4 teraktivasi yang berada pada permukaan membran sel-sel otot, sehingga dapat berikatan dengan antibodi GLUT4 yang diberikan. Sementara pada kelompok diabetes, lebih banyak diperoleh penampakan bercak yang berwarna abu-abu keperakan dibandingkan dengan yang berwarna coklat pekat. Hal ini disebabkan karena pada kondisi DM, terjadi resistensi insulin, sehingga penghantaran sinyal PI-3-kinase terganggu dan berakibat pada berkurangnya translokasi GLUT4 menuju ke membran plasma (Goldstein, 2000; Kahn and Saltiel, 2001; Powers, 2005). Sementara itu, intensitas warna serta luas daerah yang berwarna coklat akibat ikatan antara GLUT4 teraktivasi dengan antibodi GLUT4 pada jaringan otot mencit kelompok perlakuan menunjukkan mulai adanya perbaikan kondisi, dimana jumlah GLUT4 teraktivasi (yang terdapat pada permukaan membran sel) terbanyak ditunjukkan oleh kelompok perlakuan dosis 30 mg/kg BB. Pada dosis 100 mg/kg BB warna coklat lebih banyak terlihat di tengah-tengah sel, sehingga tidak menunjukkan adanya aktivasi pada GLUT4. Semakin banyak GLUT4 yang teraktivasi pada permukaan membran sel, pemasukkan glukosa ke dalam sel akan semakin meningkat, yang dapat berakibat pada menurunnya kadar glukosa bebas dalam darah (Bevan, 2001; Asante-Appiah *et al*, 2003). Adapun irisan yang digunakan pada pengamatan ini merupakan irisan melintang dengan pertimbangan pada irisan melintang sitoplasma sel otot dapat diamati dengan lebih jelas daripada irisan membujur.

#### DAFTAR PUSTAKA

Arulmozhi, D. K., Veeran, J. A., Bodhankar, S. L., 2004. Neonatal Rat Model of Type 2 DM. *Indian J.*

*Pharmacol*, Vol. 36, pp. 217-221.

- Arijanto, Audrey N., 2006. *Efektivitas VS terhadap Penurunan Glukosa Darah pada Mencit (Mus musculus) DM Tipe 2*. Surabaya: Bagian Ilmu Biomedik Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Asante-Appiah, E., Kennedy, B. P., 2003. Protein Tyrosine Phosphatases: The Quest for Negative Regulators of Insulin Action. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Vol. 284, pp. 663-670.
- Belfiore, F., Iannello, S., 2000. Etiological Classification Patophysiology and Diagnosis; Insulin Secretion and Its Pharmacological Stimulation; Insulin Resistance and Its Relevance to Treatment. In: F. Belfiore, C. E. Mongensen (Eds.). *New Concept in Diabetes and Its Treatment*, Basel: Karger.
- Bevan, P., 2001. Insulin Signaling. *J. Cell Sci.*, Vol. 114, pp. 1429-1430.
- Boden, G., 1997. Role of Fatty Acids in the Patogenesis of Insulin Resistance and NIDDM. *Diabetes*, Vol. 36, p. 3-10.
- Cadene, A., Grigorescu, F. Serrano, J., Cros, G., 1996. Characterization of Vanadyl Sulfate Effect on Vascular Contraction: Roles of Calcium and Tyrosine Phosphorylation. *J. Pharmacol. Exper. Therap.*, Vol. 281, No. 1, pp. 491-498.
- Elmendorf, J. S., 2002. Signals that Regulate GLUT4 Translocation. *J. Membr. Biol.*, 190(3), p. 167-174.
- Fawcett, D. H., 2002. *Buku Ajar Histologi, Ed. 12*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal. 233-74, 583-603.
- Funk, J. L., 2006. Disorder of the Endocrine Pancreas. In: *Pathophysiology of Disease, an Introduction to Clinical Medicine, 5<sup>th</sup> Ed.* USA: McGraw-Hill Co., p. 1333-1357.
- Goldstein, B. J., 2000. Regulation of Insulin Action by Protein-Tyrosine Phosphatases. In: D. LeRoith, S. I. Taylor, J. M. Olefsky (Eds.). *DM, A Fundamental and Clinical Text, 2<sup>nd</sup> Ed.*, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 206-207.
- IHC WORLD, 2009. *Introduction to Immunohistochemistry*. <http://www.iheworld.com/intro/antigen-retrieval.htm>. 16 Januari 2010.
- Kahn, C. R., Saltiel, A. R., 2001. Insulin Signaling and the Regulation of Glucose and Lipid Metabolism. *Nature*, Vol. 414, pp. 799-806.
- Kitamura, T., Kitamura, Y., Kuroda, S., Hino, Y., Ando, M., Kotani, K., Konishi, H., Matsuzaki, H., Kikkawa, U., Ogawa, W., Kasuga, M., 1999. Insulin-Induced Phosphorylation and Activation of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase 3B by the Serine-Threonine Kinase Akt. *Mol. Cell*.