

Penurunan Kadar Gula Darah pada Monyet Ekor Panjang Obes dengan Pemberian Nikotin Dosis Rendah

(DECREASE IN BLOOD SUGAR LEVEL IN LONG TAILED OBESE MACAQUES
GIVING WITH LOW DOSE NICOTINE)

Chusnul Choliq¹, Dondin Sajuthi^{1,2}, Irma Herawati Suparto^{2,3},
Dewi Apri Astuti^{2,4}, Retno Wulansari¹

¹Bagian Penyakit Dalam
Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680
Tel. 0251-8625656, e-mail: noelch08@gmail.com
²Pusat Studi Satwa Primata,
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat IPB
³Departemen Kimia,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB
⁴Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan
Fakultas Peternakan IPB

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya respons perubahan kadar gula darah setelah diberikan tambahan nikotin. Sebanyak 14 ekor MEP dewasa (umur 6-8 tahun) jantan dikategorikan berdasarkan indeks masa tubuh (IMT) ke dalam preobes (IMT=23,65-25,00) dan obes (IMT \geq 26,00) telah digunakan. Hewan dikelompokkan menjadi empat grup, yaitu lima ekor preobes dengan nikotin (pOb+), lima ekor obes dengan nikotin (Ob+), dua ekor preobes tanpa nikotin (pOb-), dan dua ekor obes tanpa nikotin (Ob-). Grup nikotin diberikan diet tinggi energi yang dicampur nikotin cair dosis 0,75 mg/kgbb/hari dan grup lainnya diberikan diet komersial *Monkey Chow*[®] sebagai kontrol. Sampel darah diambil setiap bulan dari vena femoralis untuk dianalisis terhadap gula darah dan pada akhir penelitian hewan dikorbankan nyawanya dan dinekropsi kemudian diambil organ pankreasnya. Sampel organ difiksasi dan diwarnai dengan pewarnaan imunohistokimia untuk mengetahui adanya sel-sel endokrin imunoreaktif terhadap insulin. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan glukosa darah yang nyata ($P<0,05$) pada grup nikotin, yaitu 28,37% (preobes) dan 33,72% (obes) dibandingkan dengan grup tanpa nikotin selama waktu penelitian. Distribusi pulau Langerhans di antara semua grup tidak ditemukan perbedaan yang nyata antara grup nikotin maupun tanpa nikotin ($P>0,05$). Berdasarkan afinitas warna coklat sitoplasma sel- β terhadap adanya granula insulin, grup tanpa nikotin memberikan warna yang lebih gelap tanpa diikuti penambahan jumlah sel- β dibandingkan grup nikotin. Simpulan penelitian menunjukkan nikotin oral dosis rendah berperan positif menurunkan kadar gula darah dengan stimulasi sel- β

Kata-kata kunci: hewan model, monyet ekor panjang, nikotin, obesitas, sel- β

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the role of low dose nicotine on the profile of blood glucose and β -cell of pancreatic islets. Fourteen adult (aged 6 – 8 years) male cynomolgus monkeys grouped based on their Body Mass Index (BMI) into preobese (BMI=23.65 – 25.00) and obese (BMI \geq 26.00) were used in this study. Subsequently animals were grouped into four: (i) preobese monkeys with nicotine (pOb+), (ii) obese monkeys with nicotine (Ob+), (iii) preobese monkeys without nicotine (pOb-), and (iv) obese monkeys without nicotine (Ob-). Animals in the nicotine groups were fed with high fat diet mixed with nicotine dose 0.5–0.75mg/kg body weight/day for three months and the others were fed *Monkey Chow*[®] only as the control group. Blood samples were collected every month for glucose analysis and necropsy was performed at the end of study. Pancreas tissues were processed histologically and stained using immunohistochemical method. The results showed that the blood glucose either preobese (28.37%) or obese (33.72%) animals in the nicotine groups significantly decrease ($p<0.05$) during the study period in comparison to the control group. Based on brown color intensity of granules cytoplasm of insulin producing cells or immunoreactive β -cells, it is shown that the cells of animals in the non nicotine group were more reactive than those in the nicotine groups. In conclusion, there was positive effect of low dose nicotine in maintaining the blood glucose level in normal range by stimulation of islet cells proliferation to maintain the production of insulin in the pancreatic islet.

Keywords: animal model, β -cells, cynomolgus monkey, nicotine, obesity

PENDAHULUAN

Nikotin merupakan alkaloid toksik yang diekstraksi dari daun kering tanaman tembakau (*Nicotianatobacum*) (Karlsson dan Ahrén, 1998) merupakan senyawa amin yang terdiri dari cincin piridin dan pirolidin. Jutaan orang di seluruh dunia terpapar melalui rokok dan juga melalui inhalasi insektisida. Nikotin dapat melalui barrier darah otak (*blood brain barrier*) dan diedarkan keseluruh bagian otak sehingga dapat mengakibatkan ketergantungan yang cukup lama dan berdampak buruk pada perokok pasif.

Konsumsi nikotin menyebabkan berbagai pengaruh negatif seperti gangguan kardiovaskuler, saraf, dan fungsi endokrin melalui efek pada sistem saraf pusat dan perifer (Benowitz 1988). Tergantung dosis yang dikonsumsi nikotin juga meningkatkan kadar plasma dari *adreno corticotropic hormone* (ACTH), epinephrine dan kortisol (Morgan *et al.* 2004). Menurut Yoshikawa *et al.*, (2005) konsumsi nikotin efektif melepaskan asetilkolin dari vesikel sinaptik dalam otak tikus. Pengikatan nikotin pada reseptor nikotinic presinaptik dari terminal saraf kolinergik berpengaruh terhadap meningkatnya pelepasan asetilkolin. Dampak pemberian nikotin pada reseptor nikotin asetilkolin (nACh) di sel- β pankreas, akan meningkatkan segregasi dan rekonstruksi inositol fosfolipid dan karena itu meningkatkan sensitivitas kalsium dalam sel (Hamaguchi *et al.*, 2003) yang berguna untuk mempercepat pelepasan insulin dari sel- β .

Efek perifer dari nikotin asetilkolin merangsang reseptor di sistem saraf parasimpatis dan simpato-adrenal (Arendash *et al.*, 1995). Hal tersebut juga memengaruhi hati melalui sekresi epinefrin yang menyebabkan peningkatan pelepasan glukosa dari hati ke aliran darah (Benowitz 1986), dan adanya asetilkolin agonis meningkatkan pelepasan epinefrin dan norepinefrin dari medula adrenal dan terjadinya pelepasan insulin dari pankreas (Iguchi 1986; Benowitz 1986). Studi terakhir menurut Hossein (2011) menunjukkan adanya efek positif nikotin pada kadar serum insulin tikus Wistar, sehingga penting dipelajari pengaruhnya pada manusia yang mengalami hipoinsulinisme.

Berdasarkan studi epidemiologi diprediksi jumlah pasien penderita diabetes di dunia akan meningkat menjadi 300 juta pada 2025 (Zimmet

et al. 2001). Berdasarkan data tahun 2006, diperkirakan 2,1% penduduk di dunia menderita diabetes dan sekitar 60% berada di Asia. Penderita diabetes ini seringkali dikaitkan dengan kejadian obesitas. Menurut data *World Health Organization* (WHO 2006) pada tahun 2005, dilaporkan terdapat 1,6 miliar orang dewasa (berumur lebih dari 15 tahun) mengalami kelebihan bobot badan (*overweight*) dan sedikitnya 400 juta di antaranya tergolong obes. Proyeksi tahun 2015, diperkirakan terdapat 2,3 miliar orang dewasa yang memiliki bobot badan berlebih dan sebanyak 700 juta di antaranya tergolong obes. Saat ini banyak masyarakat di negara berkembang, seperti Indonesia mengalami masalah obesitas dan diabetes (WHO 2007).

Kejadian obesitas dan diabetes terus meningkat setiap tahun karena adanya perubahan pola makan yang mengandung tinggi karbohidrat, lemak, protein, dan penurunan aktivitas fisik dalam bentuk kerja dan mobilitas. Perubahan pola makan tersebut dalam jangka waktu lama disertai penurunan aktivitas fisik menimbulkan risiko terjadinya sindroma metabolik yang mengakibatkan obesitas. Efek yang ditimbulkan akibat obesitas dapat berhubungan dengan penurunan kualitas hidup dan sebagai faktor pemicu terjadinya berbagai penyakit, antara lain gangguan kardiovaskuler, diabetes melitus, dan hipertensi. Obesitas dan diabetes dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti genetik, gaya hidup, lingkungan, psikologis, sosial, dan budaya (Racette *et al.*, 2003). Senyawa nikotin dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk mengatasi sindroma metabolik yang disebabkan oleh konsumsi makanan tinggi karbohidrat, protein, dan lemak. Nikotin mempunyai efek positif bagi kesehatan apabila digunakan dalam dosis yang tepat dan aman. Menurut Balfour *et al.*, (2000) nikotin memiliki *margin of safety* atau batas pemakaian yang luas dan dapat menimbulkan toksisitas bila mencapai 60 mg/kg bobot badan.

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian nikotin dosis rendah (0,75 mg/kg bobot badan) pada pankreas monyet ekor panjang (MEP) sebagai hewan model yang mengalami obesitas. MEP dimanfaatkan sebagai hewan percobaan karena memiliki banyak kemiripan dengan manusia dari segi anatomi dan fisiologi (Roth *et al.* 2004). Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui kadar glukosa darah dan gambaran sel- β pankreas pada MEP obesitas tersebut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian bersama yang dibagi dalam dua tahap. Tahap pertama adalah pembentukan hewan menjadi obes dengan pemberian pakan tinggi energi selama 12 bulan. Tahap kedua, adalah perlakuan pemberian nikotin yang dilakukan selama tiga bulan. Penelitian dilakukan di Pusat Studi Satwa Primata dan Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Penelitian ini menggunakan 14 ekor monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) jantan umur 6–8 tahun dengan bobot badan awal antara 4,8–6,0 kg. Seluruh monyet percobaan dikelompokkan menurut indeks massa tubuh (IMT), yaitu preobes (IMT=23,65–25,00) dan obes (IMT \geq 26,00). Kelompok monyet yang memperoleh nikotin dosis rendah (0,50-0,75 mg/kg bb) selama tiga bulan, dikelompokkan menjadi preobes (pOb+) dan obes (Ob+) masing-masing lima ekor yang dikandangkan secara individu, serta memperoleh pakan lemak tinggi (4200 kalori). Hewan kontrol preobes tanpa nikotin (pOb-) dan obes tanpa nikotin (Ob-) masing-masing dua ekor diperoleh dari penangkaran dan mengalami obesitas secara alami dengan pakan bersumber dari *Monkey Chow*[®]. Seluruh prosedur perlakuan yang melibatkan hewan model percobaan dilakukan berdasarkan peraturan yang telah ditetapkan oleh *Animal Care and Use Committee* (ACUC) yang merupakan Komisi Kesejahteraan dan Penggunaan Hewan Percobaan dari PT IndoAnilab dengan nomor protokol: 04-IA-ACUC-09, sedangkan untuk hewan kontrol mengikuti prosedur standar ACUC dalam penangkaran.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola tersarang dengan waktu sebagai faktor *unequalreplication* dan Uji-t. Kelompok monyet yang memperoleh nikotin, diambil data dasar dan setiap bulannya selama tiga bulan terhadap peubah gula darah. Sebelum pengambilan darah, hewan dibius dengan ketamin HCl dosis 10 mg/kg bobot badan (bb) yang diinjeksikan intramuskuler. Sampel darah diambil melalui vena femoralis sebanyak 3 mL pada tabung *venoject* tanpa antikoagulan, disentrifus, kemudian dianalisis kadar glukosa darahnya. Kadar glukosa darah dianalisis dengan metode oksidasi enzimatis (glukosa oksidase=GOD) menggunakan kit glukosa

nomor katalog 112191.

Pada akhir penelitian monyet dikorbankan nyawanya untuk diambil sampel jaringan. Hewan dibius dengan ketamin HCl dosis 10 mg/kg bb yang diinjeksikan intramuskuler, selanjutnya ditidurkan dengan Pentobarbital[®] dosis 30 mg/kg bb secara intravena. Organ pankreas diambil untuk melihat perubahan gambaran histomorfologi akibat perlakuan nikotin tersebut. Sampel organ pankreas dicuci dengan NaCl fisiologi, selanjutnya difiksasi dalam larutan paraformaldehid 4% selama tiga hari dan disimpan dalam alkohol 70% sebagai *stopping point* sampai proses selanjutnya.

Sampel jaringan pankreas dengan ukuran sekitar 1 x 0,5 cm diproses menurut standar histologi dan jaringan didehidrasi dengan cara direndam dalam alkohol konsentrasi bertingkat mulai dari 70% sampai dengan 100%. Jaringan tersebut dijernihkan dalam xilol dan ditanam (*embedding*) dalam parafin sehingga menjadi blok parafin. Blok parafin diiris menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μ m, lalu dilekatkan pada gelas objek yang sudah dilapisi (*coating*) dengan gelatin dan diinkubasikan semalam dalam inkubator.

Sediaan kemudian diwarnai secara imunohistokimia (IHK) menggunakan antibodi terhadap insulin (1:1 500) dengan metode *avidin-biotin-peroxidase complex* (ABC) menurut Hsu *et al.*, (1981). Pewarnaan IHK menggunakan kit *horseradish peroxidase* (HRP) yang dilabel dengan streptavidin dari *Starr Trek Universal Detection System Biocare Medical*. Pengamatan dilakukan terhadap gambaran sel-sel penghasil hormon insulin (sel- β) yang imunoreaktif pada pulau Langerhans pankreas.

Hasil dari pewarnaan IHK dianalisis secara deskriptif dan kuantitatif. Pengamatan pada organ pankreas dilakukan untuk mengamati distribusi pulau Langerhans, penghitungan luas area positif insulin dan penghitungan jumlah sel- β . Banyaknya pulau Langerhans setiap lapang pandang didapatkan dengan menghitung jumlahnya menggunakan asumsi perhitungan besaran pulau Langerhans dengan ukuran kecil (jumlah sel kurang dari 25 sel), sedang (jumlah sel antara 25 sampai 50 sel) dan besar (jumlah selnya lebih besar dari 50 sel) dan dihitung jumlahnya. Penghitungan sel- β pada pulau Langerhans menggunakan *software Adobe*[®] *Photoshop*[®] CS4 dilakukan pada pulau Langerhans berukuran sedang karena karena jumlahnya paling banyak. Jumlah sel- β yang

imunoreaktif dihitung dengan kriteria adanya butir-butir berwarna coklat pada sitoplasma, baik ditemukan inti maupun tidak. Perhitungan luas area positif insulin dilakukan dengan menghitung persentase intensitas warna coklat yang ditimbulkan oleh reaksi antigen-antibodi dari insulin pada pulau Langerhans menggunakan *software MBF_ImageJ*. Hasil pengamatan pada pankreas selanjutnya dipotret dengan mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan alat fotografi (Nikon Eclipse E-600W).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Glukosa Darah

Berdasarkan hasil analisis glukosa darah MEP sebelum dan selama pemberian nikotin menunjukkan bahwa kedua kelompok monyet preobes dan obes memberikan respons positif terjadi penurunan yang nyata seperti disajikan pada Gambar 1.

Analisis ragam berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah berbeda nyata, dipengaruhi oleh waktu pemberian nikotin ($P < 0,05$). Kelompok hewan preobes (pOb+) mengalami penurunan kadar glukosa darah yang bermakna sesudah pemberian nikotin mulai bulan ke-0 sampai bulan ke-3, yaitu sebesar 20,2 mg/dL (28,37%) dari 71,20 mg/dL menjadi 51,00 mg/dL. Demikian pula, kadar glukosa pada kelompok obes (Ob+) sesudah pemberian nikotin pada bulan ke-0 sampai bulan ke-3, yaitu sebesar 17,60 mg/dL (33,72%) dari 52,20 mg/dL menjadi 34,60 mg/dL. Sebagai pembandingan, kadar

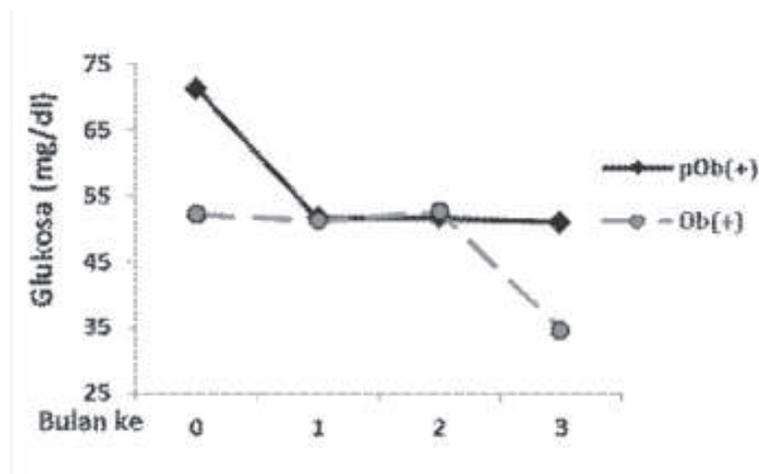
glukosa darah pada kelompok kontrol preobes (pOb-) dan obes (Ob-) tanpa nikotin masing-masing 58,60 mg/dL dan 52,80 mg/dL. Meskipun terjadi penurunan kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok perlakuan dengan nikotin, akan tetapi rata-rata kadar glukosa darah MEP masih dalam kisaran normal, yaitu 48-69 mg/dL (Fortman *et al.*, 2002)

Gambar 1 memperlihatkan adanya penurunan dan kadar glukosa pada kelompok preobes dan obes. Walaupun rata-rata masing-masing kelompok berbeda pada bulan ke-0, namun masih dalam kisaran normal. Hal tersebut disebabkan oleh status masing-masing kelompok berbeda berdasarkan indeks masa tubuhnya. Pada bulan ke-1, terlihat respons yang serupa terhadap perlakuan pemberian nikotin yang ditunjukkan dengan penurunan nyata ($P < 0,05$) kadar masing-masing glukosa pada bulan ke-3 akhir penelitian.

Analisis kecenderungan (*trend*) terhadap penurunan glukosa pada kelompok preobes (pOb+) dan obes (Ob+) menunjukkan kecenderungan negatif seperti disajikan pada Gambar 1, yang berarti pemberian nikotin dosis rendah pada kelompok MEP preobes maupun obes memberikan respon positif terhadap penurunan gula darah.

Distribusi Pulau Langerhans

Pengamatan terhadap distribusi pulau Langerhans pankreas MEP preobes dan obes dilakukan dengan menghitung keberadaan pulau Langerhans pada masing-masing bagian pankreas (kaput, korpus, dan kauda) dengan mikroskop pembesaran rendah. Distribusi pulau Langerhans pankreas disajikan pada Gambar



Gambar 1 Rataan kadar glukosa darah monyet ekor panjang preobes dan obes dengan intervensi nikotin cair dosis rendah. Penurunannya nyata dipengaruhi waktu pemberian.

2A.

Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan dengan mengamati 10 lapang pandang menunjukkan bahwa pulau Langerhans terdistribusi hampir merata pada semua bagian kepala (kaput), badan (korpus), dan ekor (kauda) pankreas, masing-masing dengan ukuran yang bervariasi mulai dari ukuran kecil, sedang, dan besar. Secara rata-rata, keseluruhan jumlah pulau pada sediaan pankreas kelompok preobes alamiah tanpa nikotin (pOb-) memiliki jumlah yang lebih tinggi (72) dibandingkan preobes dengan nikotin (pOb+) yaitu (37). Adapun pada kelompok obes baik yang diintervensi nikotin (Ob+) maupun tanpa nikotin (Ob-) tidak menunjukkan perbedaan yang berarti. Dengan demikian dapat dijelaskan bahwa penurunan rataan jumlah pulau Langerhans pada kelompok preobes (pOb+) tidak memengaruhi sekresi insulin, hal ini yang ditandai dengan adanya penurunan kadar glukosa darah kelompok ini. Penelitian tentang pemaparan nikotin terhadap sel-sel asiner pankreas terstimulasi telah dilaporkan pada tikus (Chowdhury *et al.*, 1989; 1990). Keberadaan nikotin yang berperan sebagai mitogen dalam menstimulasi proliferasi sel asiner pankreas telah diketahui, sehingga diduga kemungkinan adanya mekanisme yang serupa dapat terjadi pada sel-β dalam pulau Langerhans.

Area Positif Insulin

Berdasarkan pengamatan area positif insulin pada sel-β pulau Langerhans, pada sitoplasmanya dapat diamati butir-butir berwarna coklat dengan intensitas yang lemah sampai kuat. Intensitas yang kuat memberikan warna coklat yang gelap pada sel-β, mengindikasikan produksi insulin yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel-β yang berwarna terang. Intensitas warna coklat dalam sitoplasma sel-β ini dapat diukur dengan perangkat lunak (*software*) *MBF_ImageJ* yang dapat mengkonversi warna coklat gelap pada hasil sediaan IHK dengan warna merah standar dari program. Dengan prosedur operasi yang diterapkan pada perangkat lunak ini, area yang memberikan hasil positif pada pewarnaan IHK dapat dihitung dengan membandingkan luas pulau Langerhans dengan bagian sitoplasma sel-β yang berwarna kecoklatan.

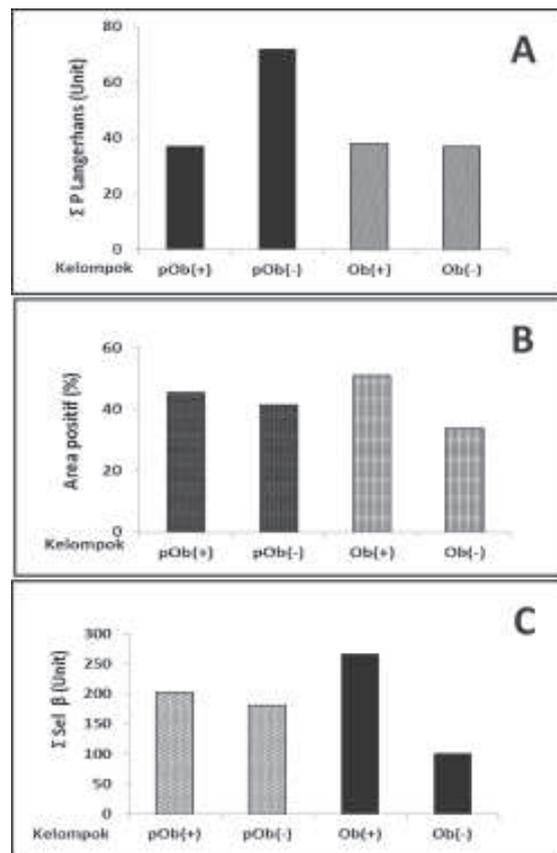
Area positif insulin pada kelompok pOb(+) dan Ob(+) memberikan persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok pOb(-)

dan Ob(-) (Gambar 2B). Dengan uji-t, monyet yang memperoleh nikotin dan tidak memperoleh nikotin, baik yang obes maupun pre-obes menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase rataan luas area positif. Masing-masing persentase luas area antara kelompok pOb(+) dan pOb(-), yaitu 45,47% dan 39,87%, sedangkan antara kelompok Ob(+) dan Ob(-), yaitu 50,95% dan 33,63%.

Luas area positif merupakan representasi dari luas warna coklat butir sitoplasma sel-β dibandingkan luas pulau Langerhans dengan membandingkan warna merah yang telah diatur dalam program pada *software* yang digunakan.

Jumlah Sel-β Pankreas

Perhitungan sel-β pankreas pada pewarnaan IHK dilakukan pada sel yang imunoreaktif ditandai dengan adanya butir-butir kecoklatan pada sitoplasmanya yang mengandung insulin dengan afinitas sedang sampai tinggi (Gambar 2 dan 3). Afinitas yang

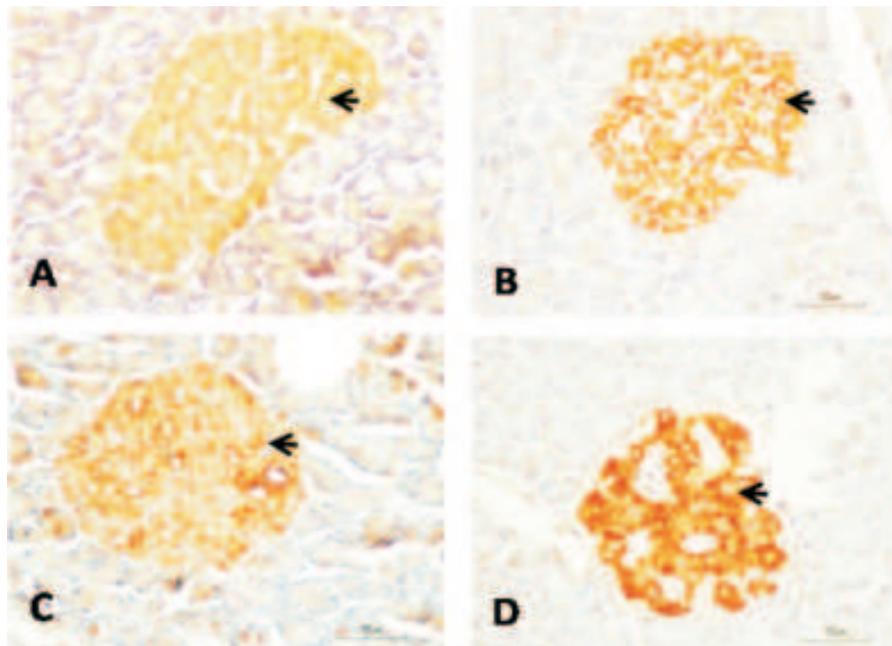


Gambar 2. Grafik rata-rata jumlah pulau Langerhans (A), persentase area positif insulin (B) dan jumlah sel-β pankreas (C) pada kelompok preobes dan obes dengan nikotin dan tanpa nikotin.

tinggi ditandai dengan intensitas warna coklat yang lebih gelap. Berdasarkan penghitungan jumlah sel- β pada pulau Langerhans dengan program *Adobe Photoshop CS4*, didapatkan bahwa jumlah sel β pada kelompok pOb(+) dan Ob(+) menunjukkan jumlah yang berbeda nyata secara statistika ($P < 0,05$) dibandingkan kelompok pOb(-) maupun Ob(-) (Gambar 2C). Kelompok dengan intervensi nikotin memiliki jumlah sel lebih banyak dibandingkan kontrol. Berdasarkan hasil perhitungan jumlah sel- β , tampak adanya pengaruh yang nyata akibat pemberian nikotin terhadap peningkatan jumlah sel- β pada masing masing kelompok. Chowdhury dan Udupa (2006), melaporkan bahwa nikotin diduga dapat berperan sebagai faktor yang menginduksi terjadinya inflamasi dan kanker pada pankreas, namun mekanisme yang tepat belum diketahui pasti. Penelitian tentang pemaparan nikotin terhadap sel-sel asiner pankreas terstimulasi telah dilaporkan pada tikus (Chowdhury *et al.*, 1989; 1990). Keberadaan nikotin yang berperan sebagai mitogen dalam menstimulasi proliferasi sel

asiner pankreas telah diketahui, sehingga diduga kemungkinan adanya mekanisme yang serupa dapat terjadi pada sel- β dalam pulau Langerhans. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa intervensi nikotin memberikan pengaruh terjadinya proliferasi sel- β , sehingga memberikan gambaran terjaganya keseimbangan kadar glukosa darah selama penelitian yang berada dalam kisaran normal.

Hasil pengamatan IHK pada kelompok preobes maupun obes alamiah tanpa pemberian nikotin memberikan intensitas warna coklat yang lebih gelap (afinitas yang tinggi) dibandingkan kelompok preobes dan obes dengan nikotin (Gambar 3). Intensitas warna coklat yang lebih gelap pada sel- β diduga merepresentasikan meningkatnya produksi insulin oleh sel- β untuk mengantisipasi banyaknya glukosa darah yang beredar dalam tubuh selama proses metabolisme. Pada kelompok obes tanpa nikotin intensitas warna coklat yang kuat ternyata tidak disertai dengan peningkatan rata-rata jumlah sel- β per satuan luas pulau Langerhans. Sebaliknya pada kelompok obes dengan nikotin, memberikan



Gambar 3 Sel-sel imunoreaktif terhadap insulin pada pulau Langerhans pankreas MEP prebes dan obes dengan pemberian nikotin (A-C) dan preobes dan obes tanpa nikotin (B-D). Pulau Langerhans dengan ukuran sedang dan intensitas warna lebih gelap terutama diamati pada kelompok tanpa nikotin (B-D), namun jumlah sel- β (anak panah) lebih pada pada kelompok dengan nikotin (A-C). (Bar=5 μ m)

gambaran intensitas warna coklat yang lebih lemah tetapi disertai dengan kepadatan jumlah sel- β yang lebih tinggi. Adanya jumlah sel- β yang tinggi dalam pulau Langerhans dengan intensitas warna coklat yang lebih lemah diduga menggambarkan adanya kompensasi untuk mencapai produksi insulin yang cukup untuk menjaga kadar glukosa darah pada kelompok preobes dan obes dengan nikotin. Sebaliknya pada kelompok preobes dan obes alamiah tanpa nikotin, produksi insulin yang tinggi pada masing-masing sel- β kemungkinan merupakan usaha tubuh untuk mengatasi kebutuhan insulin yang mirip dengan keadaan hipersekresi insulin.

Hal tersebut sejalan dengan penelitian Harishankar *et al.*, (2011) yang dilakukan pada tikus mutan WNIN/Ob kurus dan obes yang menggambarkan terjadinya hiperplasia sel- β dan densitas pada pulau Langerhans yang lebih tinggi pada tikus obes alamiah. Demikian pula secara imunohistokimia area positif insulin pada pulau Langerhans lebih tinggi pada tikus obes dan gambaran pulau Langerhans yang lebih besar dan tidak beraturan, sedangkan pada yang kurus bentuk pulaunya teratur dan normal.

Hipersekresi insulin bila berjalan kronis mengakibatkan hiperinsulinemia yaitu suatu kondisi gangguan endokrin yang ditandai dengan adanya kelebihan insulin dalam sirkulasi darah yang menyebabkan malfungsi sistem kontrol glukosa darah. Hiperinsulinemia seringkali disebabkan oleh resistensi insulin, yaitu suatu kondisi tubuh yang resisten terhadap efek insulin sehingga pankreas mengkompensasi dengan memproduksi insulin lebih banyak. Pankreas yang tidak lagi dapat memproduksi insulin secara cukup menyebabkan pengaturan glukosa darah akan terganggu dan biasanya dijumpai pada kejadian obesitas dengan indikasi mengarah pada diabetes melitus tipe 2 (Collazo-Clavell 2011).

SIMPULAN

Pemberian nikotin dosis rendah pada monyet ekor panjang obes menyebabkan penurunan kadar glukosa darah perifer, mempertahankan jumlah sel- β , dan mengoreksi nilai insulin. Kepadatan jumlah sel- β akibat pemberian nikotin menyebabkan produksi insulin oleh masing-masing sel- β cukup untuk mempertahankan kadar glukosa darah dalam kisaran normal.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan mengeksplorasi gambaran sel-sel endokrin penghasil glukagon dan sel-sel eksokrin yang menghasilkan enzim-enzim yang dipengaruhi akibat intervensi nikotin oral. Pemberian nikotin dosis rendah bertingkat dengan waktu yang lebih lama diharapkan akan mendapatkan dosis yang tepat dan waktu henti optimum sehingga diperoleh manfaat positif lain dari nikotin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PT. IndoAnilab Bogor, PT. Wanara Satwa Loka, Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) LPPM IPB, Laboratorium Riset Anatomi Departemen AFF FKH-IPB, Pengurus Besar PDHI dan semua pihak yang telah membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Arendash GW, Sanberg PR, Sengstock GJ. 1995. Nicotine enhances the learning and memory of aged rats. *Pharmacol Biochem Behav* 52: 517-523.
- Balfour D, Benowitz N, Fagerstrom K, Kunze M, and Keil U. 2000. Diagnosis and treatment of nicotine dependence with emphasis on nicotine replacement therapy. A status report. *Eur Heart J* 21: 438-445
- Benowitz NL. 1986. Clinical pharmacology of nicotine. *Annu Rev Med* 37 : 21-32.
- Benowitz NL. 1988. Drug therapy. Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. *N Engl J Med* 319: 1318-1330.
- Bouwens L, Rooman I. 2005. Regulation of pancreatic beta-cell mass. *Physiol Rev* 85: 1255-1270.
- Chatkin R, Chatkin JM. 2007. Smoking and changes in body weight: can physiopathology and genetics explain this association. *J Bras Pneumonal* 33(6) : 712-719.
- Chiolero A, Faeh D, Paccaud F, Cornuz J. 2008. Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. *Am J Clin Nutr* 87 : 801-809.
- Chowdhury P, Hosotani R, Chang L, Rayford PL. 1989. Inhibition of CCK or carbachol stimulated amylase release by nicotine. *Life Sci* 45 : 2163-2168.

- Chowdhury P, Hosotani R, Chang L, Rayford PL. 1990. Metabolic and pathologic effects of nicotine on gastrointestinal tract and pancreas of rats. *Pancreas* 5 : 222-229.
- Chowdhury P, Udupa KB. 2006. Nicotine as mitogenic stimulus for pancreatic acinar cell proliferation. *World J Gastroenterol* 12(46) : 7428-7432.
- Collazo-Clavell, M. 2011. Question: Is hiperinsulinemia a form of diabetes?. [http://www.mayoclinic.com/diabetes\[terhubung%20berkala\]\[28%20Mei%202012\]](http://www.mayoclinic.com/diabetes[terhubung%20berkala][28%20Mei%202012])
- Fortman DJ, Hewett TA, Bennet BT. 2002. *The Laboratory Nonhuman Primate*. Florida: CRCPr. P. 266.
- Hamaguchi K, Utsunomiya N, Takaki R, Yoshimatsu H, Sakata T. 2003. Cellular interaction between mouse pancreatic alpha-cell and beta-cell lines: possible contact-dependent inhibition of insulin secretion. *Exp Biol Med* 228 : 1227-1233.
- Harishankar N, Kumar PU, Sesikeran B, Giridharan N. 2011. Obesity Associated pathophysiological & histological changes in WNIN obese mutant rats. *Indian J Med Res* 134 : 330-340.
- Hossein A. 2011. The effect of nicotine on the serum level of insulin in adult male Wistar rats. *J Cell Anim Biol* 5(10) : 215-218
- Hsu, SM, Raine L, Fanger H. 1981. The use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29 : 577-580.
- Iguchi A, Gotoh M, Matsunaga H, Yatomi A, Honmura A, Yanase M, Sakamoto N. 1986. Mechanism of central hyperglycemic effect of cholinergic agonists in fasted rats. *Am J Physiol* 251 : 1-7.
- Karlsson S, Ahrén B. 1998. Insulin and glucagon secretion by ganglionic nicotinic activation in adrenalectomized mice. *Eur J Pharmacol* 342 : 291-295.
- Morgan TM, Crawford L, Stoller A, Toth D, Yeo KT, Baron JA. 2004. Acute effects of nicotine on serum glucose insulin growth hormone and cortisol in healthy smokers. *Metabolism* 53 : 578-582.
- Narahashi T, Fenster CP, Quick MW, Lester RAJ, Marszalec W, Aistrup GL, Sattelle DB, Martin BR, Levin ED. 2000. Symposium overview: mechanism of action of nicotine on neuronal acetylcholine receptors, from molecule to behavior. *Toxicol Sci* 57 : 192-202.
- Racette SB, Deusinger SS, Deusinger RH. 2003. Obesity : overview of prevalence, ethiology, and treatment. *Phys Ther* 83 : 276-288.
- Richards MP, Ashwell CN, McMurty JP. 2000. Quantitative analysis of leptin mRNA using comparative reverse transcriptase PCR and capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Electrophoresis* 21 : 792-298.
- Roth GS, Mattison JA, Ottinger MA, Chachich ME, Lane MA, Ingram DK. 2004. Aging in rhesus monkeys: relevance to human health intervention. *Science* 305 : 1423-1426.
- Susan Z, Janoski MD, Jack A. 2002. Drug therapy in obesity. *Engl J Med* 346 : 8.
- Warongan AW, Jusuf I, Sajuthi D, Sulistiawati E, Mansjoer S S, Oktarina R. 2010. Intervensi nikotin terhadap level *low density lipoprotein* dan ekspresi UCP-1 (*uncoupling protein-1*) pada monyet ekor panjang obes dengan resiko aterogenik. *J Primatol Indo* 7(1) : 11-15
- [WHO] The World Health Organization. 2006. Prevalence of Obesity. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>. [10 Sep 2007].
- [WHO] The World Health Organization. 2007. Diabetes. <http://www.google.com/gwt/n?u=http%3A%2F%2Fwww.who.int%2F> [4 Feb 2008]
- Yoshikawa H, Hellström-Lindhahl E, Grill V. 2005. Evidence for functional nicotinic receptors on pancreatic beta cells. *Metabolism* 54 : 247-254.
- Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. 2001. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414 : 782-787.