

Studi Karakteristik Tipe Diabetes pada Tikus (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Deksametason

(CHARACTERISTIC STUDY OF THE TYPE OF DIABETES IN RAT
(*RATTUS NOVERGICUS*) MODEL INDUCED BY DEXAMETHASONE)

Rahmania Hanim¹, Huda Shalahudin Darusman^{1,2},
Min Rahminiwati¹

¹Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia, 16680

²Pusat Studi Satwa Primata IPB, Jln. Lodaya II No. 5 Bogor
Tel +62 251 8629469, 8629464, Fax +62 251 8629464,
Email: hanim.rahmania@gmail.com

ABSTRAK

Diabetes ditandai dengan adanya hiperglikemia yang disertai dengan beberapa gejala lainnya seperti polydipsi, polyuri, penurunan bobot badan dan penurunan indeks sensitivitas insulin khususnya pada diabetes mellitus tipe-2. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari karakteristik dari tipe diabetes mellitus yang diinduksi oleh deksametason pada hewan tikus (*Rattus novergicus*). Sejumlah 24 ekor tikus dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing menerima perlakuan selama 10 hari: (1) injeksi akuabides (K0), (2) injeksi subkutan deksametason 1 mg/kg BB/hari (K1), (3) injeksi subkutan deksametason 2,5 mg/kg BB/hari (K2), (4) injeksi subkutan deksametason 5 mg/kg BB/hari (K3). Data kadar gula darah puasa, kadar insulin puasa, bobot badan, asupan pakan, volume urin dan asupan air minum diambil pada hari ke-0, 5, 10 dan 15 (5 hari setelah induksi dihentikan). Hasil penelitian ini menunjukkan terjadi peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok yang diinduksi deksametason, penurunan indeks sensitivitas insulin dan penurunan bobot badan tikus, akan tetapi tidak ada perubahan pada asupan makan, asupan air minum, volume urin dan kadar insulin puasa sebelum dan sesudah perlakuan. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap jumlah total sel beta pankreas antara kelompok perlakuan yang diinduksi deksametason dengan kontrol. Induksi deksametason pada tikus menyebabkan hiperglikemia yang reversibel dan belum memenuhi karakteristik sebagai model diabetes mellitus baik tipe-1 maupun 2.

Kata-kata kunci: dexamethasone; *insulin sensitivity index*; sel beta pankreas; hiperglikemia

ABSTRACT

Diabetes is marked by hyperglycemia with severe symptoms included polydipsi, polyuri, polyphagia, weight loss, and decreased of insulin sensitivity index specially at type 2 diabetes mellitus. The objective of this research was to analyze the characteristics of diabetes mellitus in rat (*Rattus novergicus*) which induced by dexamethasone. A total of 24 rats were divided into four groups which divided as follow: (1) aquabidest subcutaneously (K0), (2) subcutaneous dexamethasone 1 mg/kgBW daily (K1), (3) subcutaneous dexamethasone 2.5 mg/kgBW daily (K2) and subcutaneous dexamethasone 5 mg/kgBW daily (K3). The data of fasting blood glucose, fasting blood insulin, body weight and feed intake, urine volume and water intake collected at day 0, 5, 10 and 15 (five days after the last treatment). The result showed that there was a significant elevation of glucose level followed by significant decreased of insulin sensitivity index and the body weight of rats in group wich induced by dexamethasone but there was no change in feed intake, water intake, volume of urine and fasting blood insulin before and after the treatment. There was insignificant different of total beta pancreatic islet between treatment and control grup. Induction of dexamethasone in mice causes reversible hyperglycemia and has not met the characteristics of either type 1 or 2 diabetes mellitus models. The profile of dexamethasone induced diabetes model has their own spesific type.

Keywords: dexamethasone; *insulin sensitivity index*; betha pancreatic cells; hyperglycemia

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit metabolik multisistem dengan ciri hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya (Dipiro 2005). Dugaan prevalensi DM pada orang dewasa (usia 20-79 tahun) sebanyak 6,4% atau 285 juta orang pada tahun 2010 dan akan meningkat menjadi 7,7% atau 439 juta orang pada 2030 (Shaw *et al.*, 2009). Indonesia menempati urutan ke-9 dalam estimasi epidemiologi DM dunia pada tahun 2010 dengan tujuh juta kasus dan akan terus naik menjadi peringkat ke-5 pada tahun 2030 dengan 20 juta kasus (Shaw *et al.*, 2009).

Tingginya prevalensi DM di Indonesia, dan perkiraan adanya peningkatan di tahun-tahun mendatang menyebabkan perlunya antisipasi dan tindakan segera dalam penatalaksanaan DM. Penatalaksanaan DM meliputi dua pendekatan, yaitu pendekatan tanpa obat dan pendekatan dengan obat. Pendekatan tanpa obat dilakukan dengan cara pengaturan pola makanan dan latihan jasmani, sedangkan pendekatan dengan obat dilakukan manakala pendekatan tanpa obat saja kurang efektif (Direktorat Bina Farmasi Komunitas & Klinik 2005). Penelitian uji obat baru untuk DM masih terus berlanjut hingga kini, dengan menggunakan senyawa aloksan atau streptozosin untuk induksi DM pada hewan model. Hewan model DM yang ada saat ini memiliki karakteristik tingginya kadar gula darah, resistensi insulin dan kerusakan sel beta pankreas (Nugroho 2006).

Berkaitan dengan karakteristik hewan model tersebut, kadar gula darah yang tinggi dapat ditimbulkan oleh beberapa sediaan farmasi. Di Indonesia, sediaan farmasi yang sering digunakan masyarakat secara swamedikasi dan dapat memicu kenaikan kadar gula darah yang tinggi adalah deksametason. Penggunaan deksametason secara kronis akibat kurangnya pengetahuan masyarakat terhadap sediaan glukokortikoid, dapat memicu DM di kemudian hari. Deksametason merupakan salah satu contoh dari kelompok glukokortikoid sintetik, yang lazim dipakai untuk mengobati berbagai penyakit inflamasi, asma bronchiale, eksim, urticaria dan berbagai penyakit alergi lainnya.

Penelitian tentang efek diabetogenik deksametason sudah banyak dipublikasi, di antaranya menurut Jeong *et al.* (2001) dan Lambilotte *et al.* (1997), sel islet dari binatang

pengerat menunjukkan turunnya sekresi insulin sebagai respons dari senyawa glukokortikoid yang bervariasi baik paparan akut maupun kronis. Selain glukokortikoid berkontribusi pada hiperglikemia dan resistensi insulin, ada tambahan peran glukokortikoid dalam merusak sel beta pankreas secara langsung (Rojas *et al.*, 2015). Sebagai tambahan, terapi deksametason menghambat sintesis glikogen yang distimulasi insulin dan aktivasi glikogen sintase (Ruzzin *et al.*, 2005). Glukokortikoid menunjukkan gangguan sel beta dalam metabolisme glukosa dengan menurunkan respons dari *Glucose Transporter 2* (GLUT 2) (Gremlich *et al.*, 1997) dan glukokinase (GK) (Borboni *et al.*, 1996). Menurut Shalam *et al.* (2005) induksi deksametason 10 mg/kg BB secara subkutan setiap hari selama 10 hari dapat digunakan untuk membuat hewan model diabetes dengan resistensi insulin.

Melalui pemahaman mekanisme diabetogenik dari deksametason tersebut maka penelitian ini mencoba untuk melihat karakteristik hewan model DM dengan induksi deksametason. Secara khusus, penelitian ini mencoba membuktikan kemampuan deksametason untuk menginduksi terjadinya DM pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*). Fokus masalah penelitian ini adalah bagaimana gejala ideal terkait dengan tipe DM pada tikus yang diinduksi deksametason, pada dosis berapa dan lama paparan yang diperlukan untuk menghasilkan hewan model DM tipe 2 serta bagaimana stabilitas karakteristik diabetes yang timbul pada hewan coba tersebut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan objek penelitian tikus putih jantan dengan bobot badan \pm 400 g. Sebanyak 24 ekor tikus jantan dipilih secara acak, kemudian dibagi dalam empat kelompok yang terdiri dari: 1) Kelompok kontrol negatif (K0) yang diinjeksi aquabides secara subkutan; 2) Kelompok (K1) tikus yang diberikan deksametason injeksi 1 mg/kg BB, secara subkutan; 3) Kelompok (K2) tikus yang diberikan deksametason injeksi 2,5 mg/kg BB, secara subkutan; 4) Kelompok (K3) tikus yang diberikan deksametason injeksi 5 mg/kg BB, secara subkutan

Tikus sehat dibuat diabetes dengan injeksi deksametason sekali setiap hari selama 10 hari.

Awal sebelum perlakuan (T_0), diambil data pengukuran klinis, kadar glukosa darah dan kadar insulin sebagai baseline (P_0). Setelah perlakuan selama lima hari (T_1), diambil data pengukuran sebagai data (P_1) dan setelah perlakuan selama 10 hari (T_2), diambil lagi data pengukuran sebagai data (P_2). Sebagian tikus pada T_2 dikorbankan nyawanya dan dilakukan pemeriksaan sel beta pankreas dengan pewarnaan imunohistokimia. Pada akhir percobaan, dilihat kestabilan diabetes yang ditimbulkan oleh induksi deksametason dengan mengambil data pengukuran dari sisa tikus yang masih hidup pada hari ke 15 (T_3) terhitung mulai dari awal perlakuan atau lima hari setelah induksi terakhir, kemudian tikus dikorbankan nyawanya dan dibuat pewarnaan imunohistokimia sel beta pankreas. Seluruh prosedur yang berhubungan dengan pemeliharaan dan perlakuan hewan dalam penelitian ini telah memenuhi persyaratan etik dengan memperhatikan kesejahteraan hewan coba yang digunakan dan mendapatkan persetujuan atas perlakuan etik dari Komisi Etik Hewan LPPM IPB dengan nomor 52-2017 IPB.

Pengukuran Klinis. Pengukuran klinis meliputi pengukuran volum urin tikus dalam kandung metabolik selama 24 jam, asupan minum harian tikus, bobot badan tikus dan asupan pakan harian tikus sebelum, selama dan sesudah percobaan.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah. Pengukuran kadar glukosa darah (mg/dL) dalam keadaan puasa. Sampel darah diambil dari vena lateralis ekor tikus. Kadar glukosa darah ditetapkan secara enzimatik dengan menggunakan metode GOD-PAP. Prinsip penetapan kadar glukosa dengan metode ini adalah terjadinya reaksi antara glukosa dengan reagen GOD-PAP yang menghasilkan senyawa kompleks berwarna *kuinonimin* yang dapat diukur dengan alat spektrofotometer visibel.

Pengukuran Kadar Insulin.

Pengukuran kadar insulin dilakukan terhadap sampel darah yang telah diambil dan telah dipisahkan serumnya. Sampel serum direaksikan dengan *monoclonal anti-insulin* (antibodi) yang telah dilapisi pada dasar sumur-sumur *microplate* dan *reagents* yang tersedia dalam DRG *insulin ELISA kit*. Setelah melalui beberapa reaksi tersebut, sampel tersebut diukur dengan alat *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

Imunohistokimia. Prinsip imunohistokimia adalah ikatan antara antigen dan antibodi

yang ditandai dengan reaksi pewarnaan antara substrat dan enzim. Analisis imunohistokimia (IHK) dilakukan dengan menggunakan kit dari *Diagnostic Biosystem* (USA) dengan pewarna *diamino benzidin* (DAB) *chromogen* dan hematoksilin. Sebelum dilakukan pewarnaan imunohistokimia, preparat dideparafinisasi terlebih dahulu, direhidrasi dan selanjutnya ditambahkan peroksida untuk menghilangkan endogenous peroksidase, karena enzim ini dapat memberikan reaksi positif palsu. Setelah dicuci dengan PBS, jaringan kemudian diinkubasi dalam antibodi primer monoklonal anti-insulin (Monoclonal Anti-Insulin, Sigma Aldrich, No. Catalog I 2018) dan inkubasi pada suhu 4°C selama satu malam. Kemudian jaringan diinkubasi dalam antibodi sekunder yang terkonjugasi dengan biotin (*Linker reagent biotinylated anti mouse and anti rabbit IgG*) dan inkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Hasil reaksi antigen-antibodi divisualisasikan dengan menggunakan *diamino benzidine* (DAB), yang selanjutnya dilakukan *counter stain* dengan hematoksilin. Preparat kemudian didehidrasi dan ditutup dengan *coverglass*. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali dan dilakukan pengambilan gambar pulau langerhans dari 10 lapang pandang. Pengamatan pada pewarnaan imunohistokimia adalah menghitung rata-rata jumlah sel beta pankreas per pulau langerhans, yang dihitung dari 10 pulau Langerhans per sediaan.

Analisis Data. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan software SAS 9.1. Data kuantitatif (variable dependen) diuji kemaknaannya terhadap pengaruh kelompok perlakuan (variable independen). Urutan uji diawali dengan uji *analysis of varian* (ANOVA). Apabila hasil uji menunjukkan signifikan ($p < 0,05$) maka data tersebut dilanjutkan dengan uji Duncan. Untuk melihat ada tidaknya interaksi, data dianalisis dengan *general linear model* (GLM) dengan menggunakan software Minitab 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek Perbedaan Dosis Deksametason terhadap Asupan Pakan dan Bobot Badan Tikus

Beberapa gejala klinis hiperglikemia di antaranya meliputi *polyuria*, *polydipsia*, *polyphagia*, menurunnya bobot badan dan

kaburnya pandangan (ADA 2010). Pada penelitian ini, hasil analisis statistika terhadap bobot badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan menunjukkan terjadi penurunan bobot badan yang cukup signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok yang diinduksi deksametason terutama pada kelompok K2 dan K3. Untuk nilai asupan pakan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, namun terdapat kecenderungan penurunan asupan pakan harian pada tikus yang diinduksi deksametason (Gambar 1).

Terjadinya penurunan bobot badan tikus pada kelompok perlakuan karena pemberian deksametason, yang termasuk dalam kelompok glukokortikoid sintetik, merupakan perangsang sekresi leptin yang kuat. Pemberian deksametason di atas dosis fisiologis dapat meningkatkan sekresi leptin pada individu dengan obesitas (Lerario *et al.*, 2001) dan leptin memiliki peran penting dalam hantaran sinyal mengatur homeostasis, baik sentral maupun perifer, mengurangi nafsu makan, massa jaringan adiposa dan bobot badan (Limanan dan Ani, 2013)

Volume Urin dan Asupan Air Minum Kandidat Tikus Diabetes yang Diinduksi Deksametason

Gejala yang sering muncul pada kondisi diabetes akibat hiperglikemia di antaranya adalah *polyuria* dan *polydipsi*. Kadar glukosa yang meninggi ke tingkat jumlah glukosa yang difiltrasi melebihi kapasitas sel-sel tubulus melakukan reabsorpsi dapat menyebabkan glukosa muncul pada urin, keadaan ini dinamakan glukosuria. Glukosa pada urin menimbulkan efek osmotik yang menarik H_2O bersamanya. Keadaan ini menimbulkan diuresis osmotik yang ditandai oleh poliuria atau sering berkemih. Cairan yang keluar dari tubuh secara berlebihan dapat menyebabkan dehidrasi, akibatnya timbul polidipsia (rasa haus berlebihan) sebagai mekanisme kompensasi untuk mengatasi dehidrasi tersebut (Saskia dan Hanna, 2015).

Pada Gambar 2 disajikan hasil uji statistika volume urin dan asupan air minum tikus sebelum dan sesudah perlakuan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), tidak terdapat tanda-tanda poliuri dan polidipsi pada semua kelompok perlakuan. Senyawa glukokortikoid memiliki peran dalam mengatur cairan tubuh melalui perantara ekspresi gen dari *natriuretic peptide receptor A* (NPR-A) dengan

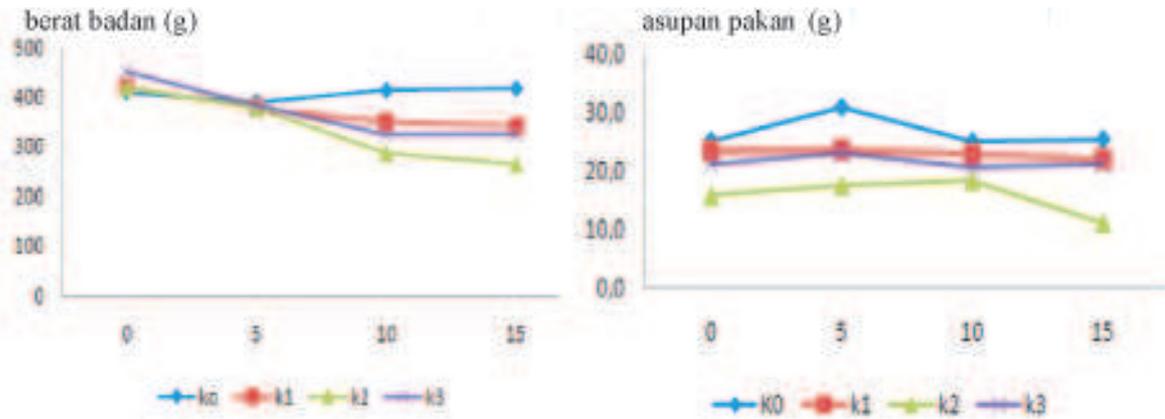
mengikat urutan DNA spesifik, yaitu *glukocorticoid response element* (Liu *et al.*, 2011). Glukokortikoid mengatur normalisasi volume cairan ekstraseluler melalui pengaturan NPR-A pada hipotalamus dan ginjal. Pada ginjal, glukokortikoid meningkatkan respons ginjal terhadap *atrial natriuretic peptide* (ANP) dengan meningkatkan densitas NPR-A pada duktus kolektivus medula dalam ginjal. Pada hipotalamus, glukokortikoid menghambat dehidrasi yang menginduksi asupan minum dengan meningkatkan respons hipotalamus terhadap ANP. Efek ini menjaga cairan tubuh selalu dalam keadaan homeostasis (Liu *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2011).

Profil Kadar Gula Darah Puasa, Kadar Insulin Puasa, dan Nilai Indeks Sensitivitas Insulin

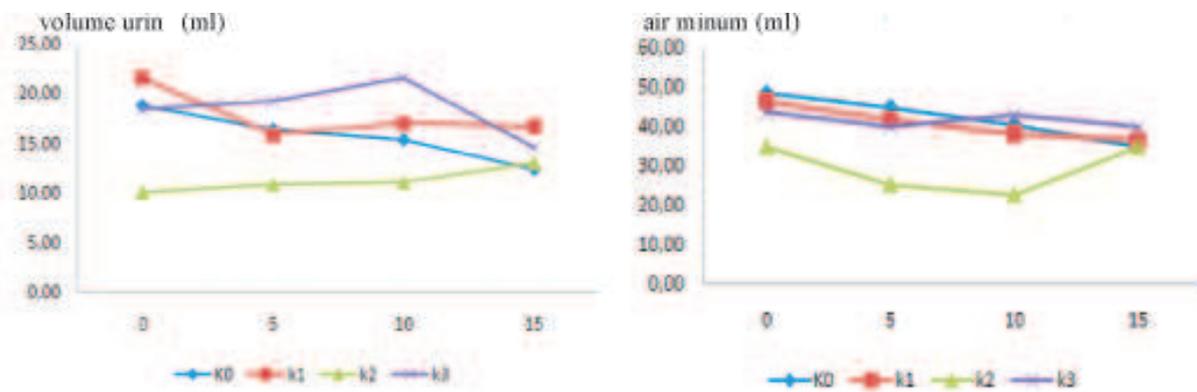
Hasil uji statistika kadar gula darah puasa (Tabel 1) menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan dan adanya interaksi antara perlakuan dan waktu ($p < 0,05$). Pada pemberian deksametason dengan dosis 1 mg/kg BB terjadi kecenderungan peningkatan kadar gula darah yang konsisten dari awal pemberian hingga 10 hari induksi dan lima hari setelah induksi terakhir meskipun secara statistika tidak berbeda secara nyata. Pada dosis 2,5 mg/kg BB terjadi kenaikan gula darah pada hari ke-5 induksi dan semakin meningkat hingga hari ke-10 induksi, akan tetapi terjadi penurunan kadar gula darah setelah lima hari induksi dihentikan. Sementara pada dosis 5 mg/kg BB gula darah telah meningkat drastis pada hari ke-5 induksi dan mengalami penurunan pada hari berikutnya.

Menurut ADA (2010), seseorang yang mengalami diabetes akibat penggunaan dosis besar steroid akan kembali normal kadar gula darahnya ketika penggunaan glukokortikoid dihentikan, akan tetapi akan kembali muncul diabetes beberapa tahun berikutnya setelah terjadi fase pankreatitis.

Berdasarkan laporan penelitian Buren *et al.* (2002), deksametason sebagai analog glukokortikoid, mengubah kapasitas transport glukosa ke dalam jaringan. Hal ini bukan karena adanya gangguan terhadap reseptor GLUT 4, akan tetapi mungkin melalui penurunan *Insulin Responsive Substrat-1* (IRS-1) dan Protein Kinase B (PKB) serta adanya penurunan aktivasi PKB yang distimulasi oleh insulin. Glukokortikoid merangsang pembentukan glukosa melalui peningkatan sekresi hormon



Gambar 1. Bobot badan dan asupan pakan tikus sebelum dan sesudah pemberian deksametason dengan berbagai dosis. K0: Kelompok kontrol negatif yang diinjeksi aquabides secara subkutan, K1: dosis deksametason injeksi 1 mg/kg BB, K2: dosis deksametason injeksi 2,5 mg/kg BB, K3: dosis deksametason injeksi 5 mg/kg BB

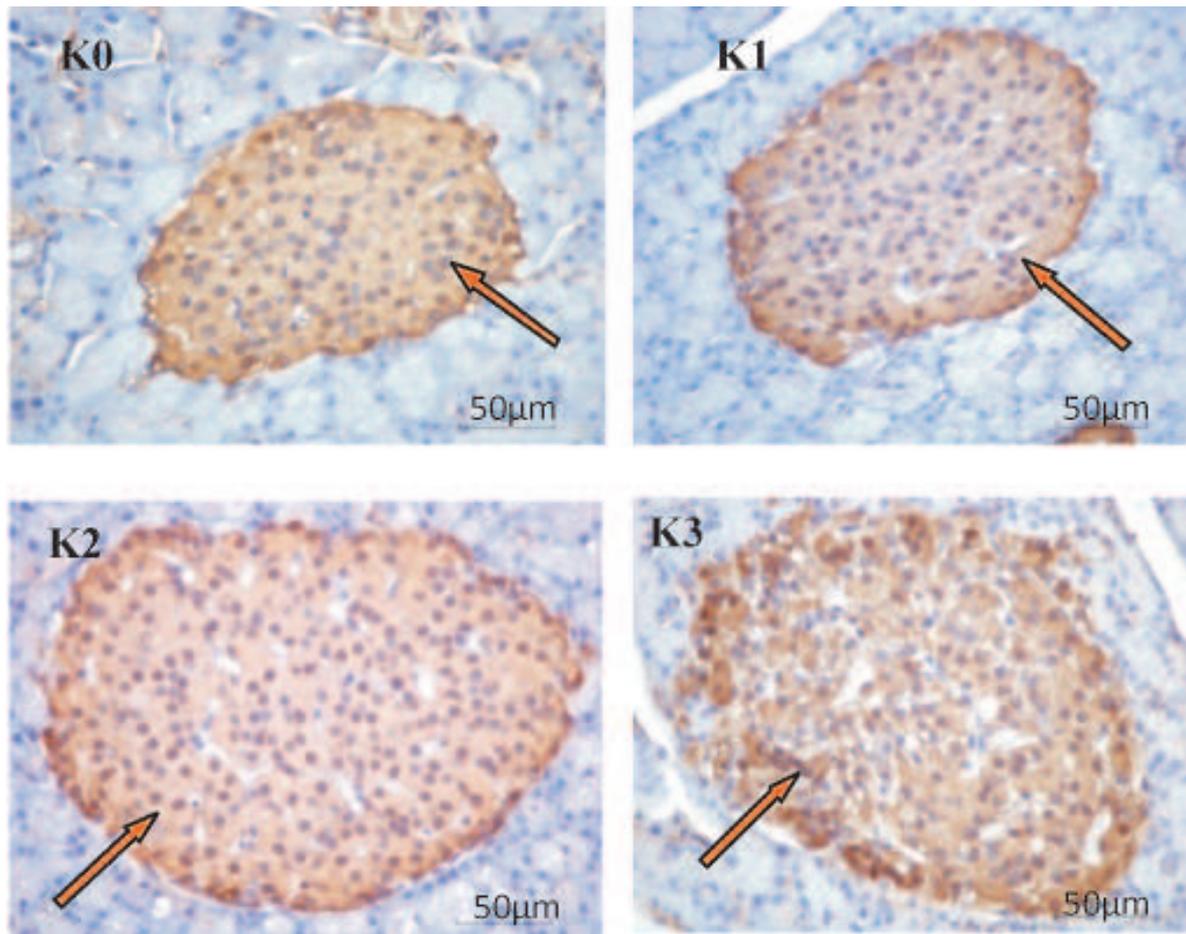


Gambar 2. Volume urin dan asupan air minum tikus dalam 24 jam sebelum dan sesudah perlakuan K0: Kelompok kontrol negatif yang diinjeksi aquabides secara subkutan, K1: dosis deksametason injeksi 1 mg/kg BB, K2: dosis deksametason injeksi 2,5 mg/kg BB, K3: dosis deksametason injeksi 5 mg/kg BB

Tabel 1. Nilai kadar gula darah puasa tikus (μ IU/mL) pada waktu (T) 0, 5, 10 dan 15

Perla- kuan	Waktu Pengambilan (Hari)				X \pm SD	P	W	P*W
	0	5	10	15				
K0	82,00 \pm 7,07 ^d	92,80 \pm 7,26 ^d	104,00 \pm 11,53 ^d	88,67 \pm 6,11 ^d	90,75 \pm 9,23 ^B	*	*	*
K1	89,83 \pm 10,23 ^d	113,33 \pm 16,13 ^{cd}	112,67 \pm 19,66 ^{cd}	115,00 \pm 21,07 ^{cd}	106,67 \pm 11,96 ^B			
K2	92,20 \pm 4,60 ^d	146,8 \pm 34,08 ^c	214,50 \pm 2,12 ^b	109,00 \pm 12,73 ^{cd}	131,57 \pm 54,29 ^B			
K3	96,40 \pm 9,66 ^d	297,4 \pm 58,76 ^a	196,00 \pm 39,60 ^b	91,50 \pm 2,12 ^d	181,71 \pm 97,44 ^A			
X \pm SD	90,10 \pm 6,05 ^B	162,58 \pm 92,59 ^A	156,80 \pm 56,57 ^A	101,04 \pm 12,94 ^B				

Ket: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama atau pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$). K0=kontrol dengan akuabides, K1= deksametason dosis 1 mg/g BB, K2 deksametason dosis 2,5 mg/g BB, K3 = deksametason dosis 5 mg/g BB; (*) signifikan (-) tidak signifikan



Gambar 3. Foto mikrograf ekspresi sel beta pankreas pulau Langerhans yang imunoreaktif terhadap anti-insulin dengan pewarnaan imunohistokimia (m → a : sel beta). K0: Kelompok kontrol negatif yang diinjeksi aquabides secara subkutan, K1: dosis deksametason injeksi 1 mg/kg BB, K2: dosis deksametason injeksi 2,5 mg/kg BB, K3: dosis deksametason injeksi 5 mg/kg BB

glukagon, karena glukagon merangsang pembentukan glukosa dari simpanannya berupa glikogen di otot dan hati, di samping itu hormon ini menurunkan pengambilan dan penggunaan glukosa, sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah (Nugroho 2012). Ketika pemberian glukokortikoid dihentikan maka diasumsikan tidak lagi terjadi peningkatan glukagon sehingga proses glikogenolisis pun akan berkurang. Selain itu dilaporkan bahwa penghentian penggunaan glukokortikoid secara mendadak memicu risiko hipoglikemia akibat *adrenal insufficiency* (Dinsen *et al.*, 2013).

Terdapat perbedaan profil kadar insulin pada tipe diabetes yang berbeda. Pada diabetes tipe-1 destruksi sel β umumnya menjurus ke arah defisiensi insulin absolut, sementara pada diabetes tipe-2 bervariasi, mulai yang

predominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang predominan gangguan sekresi insulin bersama resistensi insulin (ADA 2010).

Hasil uji statistika terhadap kadar insulin puasa pada Tabel 2 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap kadar insulin puasa tikus ($p < 0,05$) namun tidak ada pengaruh waktu dan pengaruh interaksi antara perlakuan ($p > 0,05$). Pada kelompok kontrol, kadar insulin lebih rendah dibanding pada kelompok yang diberi perlakuan.

Kadar insulin puasa mencerminkan resistensi insulin, semakin tinggi kadar insulin puasa, semakin tinggi tingkat resistensi insulin. Hal ini didasarkan pada pengertian resistensi insulin menyebabkan kompensasi berupa keadaan hiperinsulinemia. Kadar insulin puasa

Tabel 2. Nilai kadar insulin puasa tikus ($\mu\text{IU/mL}$) pada waktu T 0, 5, 10 dan 15

Perlakuan	Waktu Pengambilan (Hari) X \pm SD				P	W	P*W
	0	5	10	15			
K0	8,88 \pm 0,40 ^{def}	8,77 \pm 0,39 ^{ef}	8,52 \pm 0,50 ^f	8,68 \pm 0,47 ^{ef}	8,72 \pm 0,15 ^C	*	-
K1	9,88 \pm 0,14 ^a	9,92 \pm 0,28 ^a	9,91 \pm 0,28 ^a	9,72 \pm 0,18 ^{ab}	9,86 \pm 0,09 ^A		
K2	9,54 \pm 0,30 ^{abc}	9,20 \pm 0,42 ^{bcd}	9,13 \pm 0,71 ^{bcdef}	9,03 \pm 0,78 ^{cdef}	9,22 \pm 0,22 ^B		
K3	9,69 \pm 0,26 ^{ab}	9,44 \pm 0,21 ^{abcd}	9,71 \pm 0,48 ^{ab}	9,11 \pm 0,07 ^{bcdef}	9,48 \pm 0,28 ^B		
X \pm SD	9,50 \pm 0,43 ^A	9,33 \pm 0,48 ^A	9,32 \pm 0,63 ^A	9,13 \pm 0,43 ^A			

Ket: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama atau pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$). K0=kontrol dengan akuabides, K1= deksametason dosis 1 mg/g BB, K2 deksametason dosis 2,5 mg/g BB, K3 = deksametason dosis 5 mg/g BB; (*) signifikan, (-) tidak signifikan

Tabel 3. Nilai indeks sensitivitas insulin

Perlakuan	Waktu Pengambilan (Hari)				X \pm SD	P	W	P*W
	0	5	10	15				
K0	0,35 \pm 0,00 ^a	0,34 \pm 0,00 ^{ab}	0,34 \pm 0,01 ^{ab}	0,35 \pm 0,01 ^{ab}	0,34 \pm 0,00 ^A	*	*	*
K1	0,34 \pm 0,01 ^{abc}	0,33 \pm 0,01 ^{cd}	0,33 \pm 0,01 ^{cd}	0,33 \pm 0,01 ^{cd}	0,33 \pm 0,01 ^B			
K2	0,34 \pm 0,00 ^{abc}	0,32 \pm 0,01 ^d	0,30 \pm 0,01 ^e	0,33 \pm 0,00 ^{cd}	0,32 \pm 0,02 ^{BC}			
K3	0,34 \pm 0,01 ^{abc}	0,29 \pm 0,01 ^f	0,32 \pm 0,02 ^d	0,34 \pm 0,00 ^{ab}	0,32 \pm 0,02 ^C			
X \pm SD	0,34 \pm 0,01 ^A	0,32 \pm 0,02 ^B	0,32 \pm 0,02 ^B	0,34 \pm 0,01 ^A				

Ket: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama atau pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$). K0=kontrol dengan akuabides, K1= deksametason dosis 1 mg/g BB, K2 deksametason dosis 2,5 mg/g BB, K3 = deksametason dosis 5 mg/g BB; (*) signifikan, (-) tidak signifikan

Tabel 4. Jumlah sel beta pankreas saat tikus diterminasi pada T10 dan T15

Perlakuan	Waktu Pengambilan (Hari)		X \pm SD	P	W	P*W
	10	15				
K0	101,45 \pm 10,82 ^a	114,57 \pm 23,38 ^a	108,01 \pm 9,28 ^A	*	-	-
K1	132,13 \pm 67,82 ^a	187,00 \pm 18,38 ^a	159,56 \pm 38,80 ^A			
K2	182,73 \pm 88,66 ^a	121,10 \pm 55,44 ^a	151,92 \pm 43,58 ^A			
K3	158,70 \pm 52,07 ^a	150,90 \pm 53,31 ^a	154,80 \pm 5,52 ^A			
X \pm SD	143,74 \pm 34,96 ^A	143,40 \pm 33,09 ^A				

Ket: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama atau pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$). K0=kontrol dengan akuabides, K1= deksametason dosis 1 mg/g BB, K2 deksametason dosis 2,5 mg/g BB, K3 = deksametason dosis 5 mg/g BB; (*) signifikan, (-) tidak signifikan

berkorelasi antara 0,58-0,92 dengan hasil pengukuran resistensi insulin dengan metode *clamp* atau FSIVGTT (Lee 2006). Pasien dengan intoleransi glukosa atau diabetes, hiperlipidemi yang berkaitan resistensi insulin, atau kombinasi dari beberapa sindroma metabolik ditandai dengan nilai indeks yang lebih rendah dibandingkan dengan orang yang sehat (Hrebicek *et al.*, 2002).

Perhitungan indeks sensitivitas insulin dengan metode QUICKI dengan menggunakan data kadar gula darah puasa (mg/dL) dan kadar insulin puasa (μ IU/ml) yaitu dengan rumus: $QUICKI = 1/(\log I_0 + \log G_0)$ (Gutch *et al.*, 2015). Dalam hal ini I_0 adalah kadar insulin puasa dalam darah dan G_0 adalah kadar gula darah puasa.

Pada Tabel 3 ditunjukkan nilai indeks sensitivitas insulin antar kelompok dan waktu perlakuan. Dilaporkan bahwa nilai indeks sensitivitas insulin adalah $0,382 \pm 0,007$ untuk non-obese, $0,331 \pm 0,010$ untuk penderita obesitas dan $0,304 \pm 0,007$ untuk penderita diabetes (Gutch *et al.*, 2015)

Hasil analisis statistika terhadap nilai sensitivitas insulin terlihat adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, serta adanya interaksi antar perlakuan dan waktu ($p < 0,05$). Pada kelompok dengan deksametason, terjadi penurunan nilai indeks sensitivitas insulin, semakin rendah indeks semakin berhubungan erat dengan adanya resistensi insulin. Mekanisme utama yang bertanggung jawab terhadap terjadinya intoleransi glukosa setelah pemberian sediaan glukokortikoid adalah menurunnya sensitivitas insulin (Clare dan Thurby, 2009). Diabetes yang diinduksi glukokortikoid mirip dengan diabetes tipe-2 karena glukokortikoid mengganggu metabolisme glukosa melalui peningkatan resistensi insulin, berbeda dengan diabetes tipe-1 akibat destruksi autoimun sel *islet* pankreas (Kwon dan Kathie, 2013).

Efek Dosis dan Lama Pemberian Deksametason terhadap Jumlah Sel Beta Pankreas Tikus

Kondisi hiperglikemia kronis cenderung meningkatkan pembentukan radikal bebas (ROS) melalui jalur metabolisme glukosa seperti autooksidasi glukosa, metabolisme pembentukan metilglioksal, dan fosforilasi oksidatif (Suarsana *et al.*, 2012). Senyawa ROS yang berlebih ini meningkatkan kejadian stres oksidatif dan merusak sel beta pankreas.

Data jumlah sel beta pankreas diambil dengan melakukan pewarnaan imunohistokimia preparat histopatologi pada hari terakhir induksi deksametason diberikan dan pada lima hari pasca induksi dihentikan. Hasil uji statistika terhadap jumlah sel beta pankreas tidak terdapat perbedaan nyata antara jumlah sel beta pankreas baik pada tikus kelompok kontrol dan tikus yang mendapatkan injeksi deksametason maupun pada perbedaan waktu pengambilan data ($p > 0,05$). Kemungkinan kondisi hiperglikemia belum sampai pada tahap hiperglikemia kronis yang menyebabkan rusaknya sel beta pankreas, akan tetapi justru terlihat bahwa rata-rata jumlah sel beta pankreas pada kelompok kontrol lebih rendah dibanding kelompok yang lain. Pada Gambar 3 ditunjukkan mikrograf ekspresi sel beta pankreas pulau langerhans yg imunoreaktif terhadap insulin antar kelompok perlakuan.

Pada penelitian yang lain dinyatakan bahwa deksametason menginduksi resistensi insulin berhubungan dengan adanya kompensasi peningkatan massa sel beta, peningkatan total jumlah insulin dan penambahan sekresi insulin yang diinduksi deksametason (Rafacho *et al.*, 2008). Pada Tabel 4 ditunjukkan jumlah sel beta pankreas saat tikus dikorbankan nyawanya pada T10 dan T15. Hasil uji statistika tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan maupun pada perbedaan waktu pengambilan sampel. Namun perhitungan jumlah sel beta pada penelitian ini sejalan dengan penelitian tersebut dan jumlah sel beta ditemukan lebih besar pada kelompok yang diinduksi deksametason dibanding dengan kelompok kontrol meskipun secara statistika tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Tingginya kadar gula darah menimbulkan kompensasi peningkatan masa sel beta untuk memproduksi insulin, akan tetapi dengan adanya peningkatan masa sel beta pada kelompok yang diberikan deksametason, tidak membuat jumlah insulin yang disekresikan semakin bertambah pada kelompok tersebut. Mekanisme sekresi insulin dari granula sekretorik dipengaruhi oleh beberapa mediator di antaranya aktivasi fosfolipase dan protein kinase C, serta rangsangan dari aktivitas adenil siklase dan protein kinase A sel beta (Wilcox 2005), sementara itu Zawalich *et al.* (2006) melaporkan bahwa deksametason menekan aktivasi fosfolipase C dan sekresi insulin. Hal ini mungkin yang mendasari kenapa pada penelitian ini tidak terjadi peningkatan jumlah

insulin sebagai respons peningkatan kadar gula darah sebanding dengan jumlah peningkatan masa sel beta.

SIMPULAN

Induksi deksametason menimbulkan hiperglikemia dengan karakteristik diabetes yang berbeda dari diabetes tipe-1 maupun tipe-2. Induksi deksametason menimbulkan tanda klinis utama dari diabetes mellitus yaitu hiperglikemia, dengan disertai penurunan indeks sensitivitas insulin serta penurunan bobot badan, namun tidak terdapat tanda-tanda polidipsi dan poliuri, tidak terjadi peningkatan maupun penurunan jumlah insulin serta tidak terdapat perubahan jumlah sel beta pankreas.

SARAN

Karena peningkatan kadar gula darah bisa disebabkan oleh peningkatan jumlah glukagon akibat deksametason, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai profil glikogen dalam jaringan otot dan hati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Pemerintah Provinsi Jawa Barat atas bantuan biaya pendidikan yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [ADA] American Diabet Association. 2010. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 33(1): 562-569.
- Borboni P, Porzio O, Magnaterra R, Fusco A, Sesti G, Lauro R, Marlier LN. 1996. Quantitative analysis of pancreatic glucokinase gene expression in cultured beta cells by competitive polymerase chain reaction. *Mol Cell Endocrinol* 117(2): 175-81
- Buren J, Hui-Xia L, Jorgen J, Jan WE. 2002. Dexamethasone impairs insulin signalling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes. *European Journal of Endocrinology* 146: 419-429
- Clore JN, Thurby L. 2009. Glucocorticoid-Induced Hyperglycemia. *Endocr Pract* 15: 469-474.
- Dinsen S, Bo B, Marianne K, Aase KR, Lennart F, Linda H, Ulla FR. 2013. Why glucocorticoid withdrawal may sometimes be as dangerous as the treatment itself. *European Journal of Internal Medicine* 24: 714-720.
- Dipiro JT. 2005. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. New York (USA). Mc Graw Hill. Hlm. 1333.
- Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. 2005. *Pharmaceutical care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Diakses pada 20 Oktober 2016 dari <http://binfar.kemkes.go.id>
- Gremlich S, Roduit R, Thorens B. 1997. Dexamethasone induces posttranslational degradation of GLUT2 and inhibition of insulin secretion in isolated pancreatic beta cells. Comparison with the effects of fatty acids. *J Biol Chem* 272(6): 3216-3222
- Gutch M, Sukriti K, Syed MR, Kumar K, Abhinav G. 2015. Assesment of Insulin Sensitivity/Resistance. *Indian J Endocrinol Metab* 19(1): 160-164
- Hebricek J, Vladimir J, Jana R, Dagma H, Ludek J. 2002. Detection of Insulin Resistance by Quantitative Insulin Sensitivity Check Index for Epidemiological Assesment and Prevention. *J Clin Endocrinol Metab* 87(1): 144-147
- Jeong IK, Oh SH, Kim BJ, Chung JH, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW. 2001. The effects of dexamethasone on insulin release and biosynthesis are dependent on the dose and duration of treatment. *Diabetes Res Clin Pract* 51(3): 163-171.
- Kwon S, Kathie LH. 2013. Glucocorticoid-Induced Hyperglycemia. *Am J Med Sci* 345(4): 274-277.
- Lambillotte C, Gilon P, Henquin JC. 1997. Direct glucocorticoid inhibition of insulin secretion. An in vitro study of dexamethasone effects in mouse islets. *J Clin Invest* 99(3): 414-423.

- Lee JM. 2006. Insulin resistance in children and adolescents. *Rev Endocr Metab Disord* 7: 141-147.
- Lerario DDG, Ferreira SRG, Miranda WL, Chacara AR. 2001. Influence of dexamethasone and weight loss on the regulation of serum leptin levels in obese individuals. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34: 479- 487
- Limanan D, Ani PR. 2013. Hantaran Sinyal Leptin dan Obesitas: Hubungannya dengan Penyakit Kardiovaskuler. *eJKI* 1(2): 149-155.
- Liu C, Jing G, Yunxiao K, Heming X, Ying C, Bao D, Kunshen L. 2010. Inhibition of Dehydration-Induced Water Intake by Glucocorticoids Is Associated with Activation of Hypothalamic Natriuretic Peptide Receptor- A in Rat. *PLoS one* 5:e15607.
- Liu C, Ying C, Yunxiao K, Zhihua N, Heming X, Jing G, Kunshen L. 2011. Glucocorticoids Improve Renal Responsiveness to Atrial Natriuretic Peptide by Up Regulating Natriuretic Peptide Receptor-A Expression in the Renal Inner Medullary Collecting Duct in Decompensated Heart Failure. *J Pharmacol Exp Ther* 339(1): 203-209
- Nugroho AE. 2006. Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas* 7(4): 378-382.
- Nugroho, AE. 2012. Farmakologi Obat-Obat Penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan. Yogyakarta. Pustaka Pelajar. Hlm. 19.
- Rafacho A, Vanessa AG, Giozzet A, Boschero C, Bosueiro JR. 2008. Functional Alterations in Endocrine Pancreas of Rats With Different Degrees of Dexamethasone-Induced Insulin Resistance. *Pancreas* 36(3): 284-293
- Rojas J, Chávez-Castillo M, Chávez-Castillo M, Cabrera M, Cabrera M, Bermúdez V, Bermúdez V. 2015. Glucocorticoid-induced death of pancreatic Beta cells: an organized chaos. *JOP* 16(1): 11-19.
- Ruzzin J, Wagman AS, Jensen J. 2005. Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signalling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor. *Diabetologia* 48(10): 2119-2130.
- Saskia TI, Hanna M. 2015. Infeksi Jamur pada Penderita Diabetes Mellitus. *Majority* 4 (8): 69-74
- Shalam MD, Harish MS, Farhana SA. 2005. Prevention of Dexamethasone- and Fructose- Induce Insulin Resistance in Rats by SH-01D, A Herbal Preparataion. *Indian J Pharmacol* 38(6): 419-422
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. 2009. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice* 87: 4-14.
- Suarsana IN, Priosoeryanto IBP, Bintang M, Wresdiyati T. 2012. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 15(2): 118-123
- Wilcox G. 2005. Insulin and Insulin Resistance. *Clin Biochem Rev* 26(2): 19-39
- Zawalich, Tesz GJ, Yamazaki H, Zawalich KC, Philbrick W. 2006. Dexamethasone suppresses phospholipase C activation and insulin secretion from isolated rat islets. *Metabolism* 55(1): 35-42.