

Artikel Penelitian

PERUBAHAN KADAR GLUKOSA DARAH PADA MENCIT PASCA STRES IMOBILISASI KRONIK

Is Asma'ul Haq Hataul
Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura
Corresponding author e-mail : nyonk.fkuh@gmail.com

Abstrak

Pendahuluan. Stres fisik dan psikologi sangat berhubungan dengan awal terjadinya berbagai penyakit termasuk penyakit sindrom metabolik. Kondisi stres menyebabkan diaktifkannya banyak hormon stres yang menyebabkan kenaikan atau penurunan kadar glukosa darah. **Tujuan.** Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mencari perubahan level glukosa darah pada mencit yang diinduksi stres restrain 6 jam/hari selama 21 hari. **Metode.** Penelitian *true experimental* dengan pendekatan *post test only control group design* dengan 12 ekor mencit jantan dewasa berat badan 20-30 g. Dibagi menjadi 3 kelompok yaitu grup nonstres (NS), stres dengan pemberian aquades (SA) dan stres yang diberi fluoksetin 20 mg/kg (SF) p.o. Stres imobilisasi diterapkan selama 6 jam/hari selama 21 hari. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan terhadap semua kelompok dengan terlebih dahulu dipuasakan selama 24 jam. Uji statistik *ANOVA one way* digunakan untuk menganalisis perbedaan antar kelompok ($p < 0,05$). **Hasil.** Rerata kadar glukosa darah pada tiap grup adalah $116,75 \pm 24,76$ mg/dL (NS), $91,00 \pm 18,24$ mg/dL (SA), dan $138,75 \pm 33,78$ mg/dL (SF). Uji statistik memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok ($p > 0,05$). **Kesimpulan.** Tidak ada perbedaan bermakna pada kadar gula darah mencit setelah diinduksi stres restrain kronis 6 jam/hari selama 21 hari.

Kata Kunci : kadar gula darah, stres imobilisasi, stres restrain kronik

Abstract

Introduction. *Physic and physiological stress closely related to the onset of many diseases including metabolic syndrome disease. Stress activated stress hormones attenuates or increase blood glucose level.* **Aim.** *This research was aimed to find out changes of blood glucose level after chronic restraint stress.* **Methods.** *It was true experimental post-test only control group design. Twelve adult male mice weighing 20-30 g were randomly divided into three groups: non-stress (NS), stress (SA) and fluoxetine stress group 20 mg/kg (SF) p.o. Stress was applied for 6 hours/day for 21 days. Blood glucose level measurement was applied for all groups as blood fasting glucose (24 h). One way analysis of ANOVA was used to evaluate the difference between groups ($p < 0,05$).* **Result.** *The mean of blood glucose were as follow $116,75 \pm 24,76$ mg/dL (NS), $91,00 \pm 18,24$ mg/dL (SA), and $138,75 \pm 33,78$ mg/dL (SF). No significance different between groups ($p > 0,05$).* **Conclusion.** *Immobilization stress with period 6 h/d for 21 days does not change blood glucose level.*

Key words: blood glucose level, immobilization stress, chronic restraint stress.

Pendahuluan

Stres fisik dan psikologi sangat berhubungan dengan awal terjadinya berbagai penyakit termasuk penyakit sindrom metabolik. Stres mampu mengubah homeostasis sistem tubuh termasuk sistem saraf, sistem imun, sistem endokrin¹ dan pencernaan². Kondisi

stres menyebabkan diaktifkannya banyak hormon stres yang dianggap sebagai *counterregulatory* oleh para endokrinologi karena memiliki efek hiperglikemia. Stimulasi stres diketahui dapat meningkatkan glukosa darah melalui beberapa jalur hipotalamik yang berbeda³. Namun dilaporkan juga bahwa stres

kronik yang berulang menyebabkan hipoglikemi dan perilaku mirip depresi¹.

Paraventricular nucleus (PVN) merupakan bagian otak yang memainkan peranan penting dalam regulasi *Hypothalamus Pituitary Adrenal* (HPA) aksis selama stres. Stres mengakibatkan aktivasi sistem saraf simpatis untuk memproduksi hormon utama stres yaitu katekolamin terutama epinefrin dan norepinefrin. Peningkatan kerja sistem saraf simpatis ini turut berkontribusi dalam regulasi metabolisme glukosa. Regulator utama HPA aksis adalah *Corticotrophin Releasing Hormone* (CRH) yang akan menstimulasi pelepasan glukokortikoid pada kelenjar adrenal. Glukokortikoid berhubungan dengan peningkatan aktivitas glukoneogenesis yang mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah⁴.

Stres imobilisasi merupakan bentuk stres yang umum digunakan menyerupai stres fisik dan psikologi. Stres imobilisasi telah dilaporkan memberikan efek perubahan terhadap metabolik⁵ dan sistem saraf yang berhubungan dengan regulasi hormon⁶. Penelitian ini dilaksanakan untuk memecahkan masalah bahwa apakah ada perubahan perubahan level glukosa darah pada mencit yang diinduksi stres restrain 6 jam/hari selama 21 hari. Sehingga penelitian ini dapat memberi tambahan informasi bagi usaha preventif dalam pencegahan perubahan kadar gula darah terhadap stres.

Metode

Alat dan Bahan Penelitian

Subyek penelitian adalah 12 ekor mencit dewasa jantan (*Mus musculus*) dengan berat badan 20-30 gram yang diperoleh dari laboratorium Zoology FMIPA Universitas Pattimura. Hewan dipelihara di laboratorium hewan, diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Rasio siklus terang dan gelap yang diberikan adalah selama 12:12, dengan suhu $30\pm 2^{\circ}\text{C}$. Kelompok hewan diberi pakan pelet AD II. Hewan dipelihara dalam kandang yang berukuran 40 x 15 x 15 cm dan diisi oleh 1-2 ekor mencit. Bahan lainnya yang diperlukan adalah pakan tikus dan sekam, fluoksetin 20 mg/kgBB yang diperoleh dari apotik dengan izin penggunaan khusus. Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah set pemeliharaan tikus, *easy touch@blood glucose GCU*, orogastric tube, tabung restrainer mencit, masker dan handschoen.

Prosedur Stres

Kelompok Perlakuan

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan pendekatan *post test only control group design*. Hewan uji dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal (NS), kelompok kontrol stres yang diberi aquades (SA) dan kelompok stres fluoksetin (SF). Masing-masing kelompok berisi 4 hewan.

Kelompok normal (NS) merupakan kelompok yang tidak diberi perlakuan apapun, melainkan hanya ditempatkan di dalam kandang saja sepanjang hari. Kelompok SA

diberi perlakuan stres disertai pemberian aquades secara per oral.

Kelompok SF merupakan grup yang diberi perlakuan stres sambil diberikan obat antidepressan fluoksetin 20 mg/kgBB per oral. Sebelum perlakuan, hewan terlebih dahulu diaklimatisasi selama satu minggu.

Prosedur Stres Restrain Kronis

Stres yang diberikan merupakan stres imobilisasi kronik. Stres imobilisasi menggunakan tabung berukuran panjang 9 cm dan diameter 3 cm. Tabung merupakan modifikasi dari tabung standar akrilik⁶. Tabung memiliki dua kutub masing-masing sebagai saluran pernapasan dan ekor. Setiap pagi sebelum diberi perlakuan, semua hewan diberi makan dan ditimbang berat badan.

Kelompok SA dan SF dimasukkan dalam restrainer selama 6 jam/hari Selama 21 hari, sementara hewan NS dibiarkan dalam kandang. Administrasi aquades dan fluoksetin^{2,6,7} dilakukan setelah penimbangan berat badan. Dosis fluoksetin yang diberikan adalah 20 mg/kg secara oral dengan menggunakan *orogastric tube*.

Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah dinilai menggunakan metode *biosensor glucose oksidase* menggunakan alat ukur *easy touch® blood glucose GCU*. Pengambilan gula darah dilakukan pada hari ke 22. Semua kelompok hewan terlebih dahulu dipuaskan selama 12 jam² untuk kemudian diambil darahnya.

Darah hewan diambil dari ujung ekor yang telah dibersihkan dengan alcohol 70%. Ujung ekor yang berdarah kemudian disentuhkan pada strip gula darah yang terpasang dengan alat ukur glukosa^{8,9,10}.

Analisis Statistik

Hasil yang disajikan dalam penelitian ini disajikan dalam bentuk nilai *mean±standar error of mean* (SEM) dari setiap kelompok perlakuan. Uji statistik untuk menentukan perbedaan level glukosa darah menggunakan uji ANOVA *one way* dengan tingkat kemaknaan 95%.

Hasil

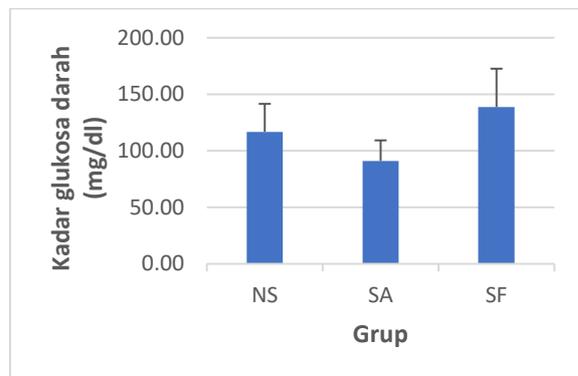
Stres imobilisasi kronis pada penelitian ini melaporkan adanya tren kadar glukosa darah pada tiap kelompok (Tabel 1).

Tabel 1. Pengukuran kadar glukosa darah pada tiap kelompok perlakuan

Kelompok	Mean±SD (mg/dL)	p
NS	116,75±24,76	0,581
SA	91,00±18,24	
SF	138,75±33,78	

Dari tabel 1 terlihat bahwa setelah menjalani stres kronik selama 6 jam/hari selama 21 hari, rerata kadar glukosa darah pada tiap grup adalah berturut-turut dari yang tertinggi adalah 138,75 mg/dl (SF), 116,75 mg/dl (NS) dan 91,00 mg/dl (SA). Perbedaan ini setelah diuji ternyata tidak memberikan nilai signifikansi <0,05. Nilai p yang diperoleh adalah 0,581, sehingga dapat disimpulkan

bahwa tidak ada perbedaan kadar gula darah secara signifikan antar ketiga kelompok ini.



Gambar 1. Kadar glukosa darah setelah perlakuan stres imobilisasi kronik

Meskipun tidak bermakna secara statistik, namun kelompok stres yang diberikan fluoksetin 20 mg/kg p.o per hari selama 21 hari memperlihatkan nilai rerata yang lebih tinggi dari kelompok stres tanpa diintervensi obat. Kelompok kontrol non stres (NS) memberikan nilai glukosa darah yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok stres (SA) tetapi lebih rendah dari kelompok stres yang diberikan fluoksetin (SF). Dengan demikian kadar glukosa kelompok stres yang tidak diberikan intervensi obat adalah kelompok yang memiliki level terendah. Namun perbedaan ini tidak berbeda nyata.

Pembahasan

Hewan coba yang terekspos stres dalam jangka waktu yang lama memperlihatkan perubahan perilaku seperti menurunnya interaksi antar kelompok, penurunan asupan glukosa dan peningkatan imobilitas². Stres akut⁵ dan kronik² mampu menginduksi terjadinya abnormalitas kadar gula darah. Stres

kronik menginduksi ekspresi gen yang berhubungan dengan metabolisme glukosa seperti G6PC, GK, GLUT 2 dan GLUT 8.¹¹

Dilaporkan dalam penelitian ini bahwa tiap kelompok memiliki kadar glukosa darah yang berbeda. Kelompok stres memiliki kadar glukosa darah yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok stres yang diberikan antidepresan fluoksetin. Bahkan lebih rendah dari kelompok yang non stres. Kelompok non stres dalam penelitian ini bertindak sebagai kontrol perlakuan untuk membandingkan ada tidaknya perubahan antara kelompok stres dan stres fluoksetin, mengingat tidak dilakukannya pengukuran kadar glukosa darah awal dari masing-masing kelompok stres.

Kelompok stres dilaporkan memiliki kadar glukosa darah lebih rendah dibandingkan kelompok fluoksetin. Penelitian sebelumnya² melaporkan terjadinya hipoglikemi pada hewan yang terpapar stres 2 jam per hari selama 14 hari. Sementara pemberian stress yang sama pada penelitian yang lain melaporkan terjadinya kondisi hiperglikemi.

Penelitian lain² melaporkan bahwa stres imobilisasi yang diberikan sekali selama 30 menit terbukti menyebabkan terjadinya elevasi kadar kortikosteron dan glukosa darah. Peningkatan kadar glukosa darah ini disebabkan karena adanya elevasi kortikosteron yang dilepaskan pada saat stres imobilisasi. Elevasi ini diikuti juga dengan adanya peningkatan kadar insulin selama stres. Peningkatan kadar glukosa darah ini bertujuan untuk memenuhi kebutuhan energi organ pada saat stres. Peningkatan ini kadar kortikosteron

yang dilepaskan selama stres menyebabkan terjadinya hiperglikemi. Dilaporkan juga bahwa stres imobilisasi tunggal secara signifikan dapat menyebabkan peningkatan kadar kortikosteron, insulin, gliserol dan badan keton yang merupakan respon terhadap stres akut.

Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan karena perbedaan waktu pengukuran kadar glukosa darah. Waktu pengukuran kadar gula darah yang berbeda akan memberi hasil yang berbeda pula. Selain itu protokol standar yang ditetapkan untuk pengukuran gula darah puasa mencit adalah 8-15 jam, namun belum ada studi yang secara tepat melaporkan waktu yang paling tepat untuk pengambilan/pengukuran kadar glukosa darah. Prosedur puasa yang dianjurkan adalah pada saat siang hari saja mengingat mencit adalah hewan nokturnal. Namun dilaporkan bahwa tidak ada perbedaan antara waktu puasa 12 jam di siang hari atau di malam hari¹². Prosedur puasa yang diterapkan dalam penelitian ini adalah 12 jam. Perbedaan lain ialah bahwa stres yang digunakan dalam penelitian ini adalah stres imobilisasi selama 6 jam selama 21 hari yang bersifat kronik.

Meskipun kadar gula darah kelompok SF tergolong normal, namun kelompok SF merupakan kelompok dengan nilai kadar gula darah tertinggi bila dibandingkan dengan kelompok non stress dan stress dengan hanya diberikan aquades.

Fluoksetin merupakan kelompok obat *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor* yang digunakan untuk mengurangi fungsi serotonin dalam keadaan depresi. Neuron serotonin

berperan dalam regulasi neuroendokrin melalui kerja HPA aksis dan simpatisadrenal.

Fluoksetin yang digunakan dalam penelitian ini bertindak sebagai obat antidepresan untuk mengurangi perilaku depresi hewan coba². Beberapa penelitian telah melaporkan efek fluoksetin terhadap stres dan kadar gula darah, yaitu bahwa fluoksetin mampu mengurangi berat badan, mengurangi terjadinya hipoglikemia dan menurunkan perilaku depresi², mencegah terjadinya hipoglikemi pada *force swimming test*⁵ dan bahwa fluoksetin dan moclobemide sebagai antidepresan meningkatkan kadar glukosa darah pada hewan non diabetes yang dipuasakan selama 12 jam⁷.

Pemberian fluoksetin selama 6 minggu juga dilaporkan secara signifikan meningkatkan kerja epinefrin dan norepinefrin yang akan menstimulasi produksi glukosa darah endogen yang akan menjadi *counter regulatory* pada pasien hipoglikemi¹. Hal ini membuktikan bahwa mekanisme serotonin dapat memainkan peranan penting dalam regulasi HPA aksis dan sistem saraf simpatis dalam respon stres fisiologis. Pemberian antidepresan lain seperti sulfonilureas secara supraspinal terbukti menurunkan kadar glukosa, corticosteron dan insulin dalam darah akibat stres imobilisasi akut.⁵

Keterbatasan Penelitian

Beberapa keterbatasan dalam penelitian ini perlu diungkapkan demi penyempurnaan penelitian selanjutnya. Keterbatasan tersebut antara lain adalah bahwa metode stres dengan

tabung restrainer yang standar tidak dapat dilaksanakan karena terbatasnya bahan akrilik.

Penelitian dengan menggunakan alat ukur darah khusus hewan coba tidak bisa terlaksana dalam penelitian ini karena keterbatasan alat. Jumlah hewan coba yang sedikit diduga menjadi alasan besarnya standar deviasi penelitian ini.

Kesimpulan

Tidak ada perbedaan bermakna pada level gula darah mencit setelah diinduksi stres restrain kronis 6 jam/hari selama 21 hari. Penelitian selanjutnya sangat diharapkan untuk menentukan kadar glukosa darah dengan metode stres yang lebih bervariasi. Penentuan pengambilan sampel darah sebaiknya juga perlu dilakukan dengan cermat. Jumlah hewan yang lebih banyak juga dianjurkan untuk penelitian selanjutnya.

Referensi

1. Briscoe VJ, Ertl AC, Tate DB, Davis SN, Effect of the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on counterregulatory responses to hyperglycemia in individual with type 1 diabetes. *Diabetes* 5, 2008.
2. Lee JK, Anti-depressant like effect of methyl gallate isolated from *Acer barbinerve* in mice. *Korean J Physiol Pharmacol* 17 pp 441-446, 2013.
3. Surwit RS, Schneider MS, Role of stress in the etiology and treatment of diabetes mellitus. *Psychosomatic medicine* 55 pp 380-393, 1993.
4. Kalantaridou SN, Zoumakis E, Makrigiannakis A, Lavasidis LG, Vrekoussis T, Chrousos GP, Corticotrophin-releasing hormone, stress and human reproduction : an update. *Journal of reproductive immunology* 85 pp 33-39, 2010.
5. Sharma N, Sim YB, Park SH, Lim SM, Kim SS, Jun JS, Hong JS, Suh HW. Effect of sulfonylureas administered centrally on the blood glucose level in immobilization stress model. *Korean J Physiol Pharmacol* 19 pp 197-202, 2015.
6. Taihuttu YMJ, Partadiredja G, Ratnasari DC, Prefrontal cortex cell proliferation of adult rats after chronic stress treated with ethanolic extract of *Centella asiatica* (L) Urban. *J Med Sci* 48 (1) pp 1-10. 2016.
7. Gomez R, Huber J, Tombini G, Barros HMT. Acute effect of different antidepressant on glycemia in diabetic and non diabetic rats. *Braz J Med Biol Res* 34 (1), 2001.
8. Kawatu C, Bodhi W, Mongi J, Uji efek ekstrak etanol daun kucing-kucingan (*Acalypha indica* L) terhadap kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmacol* 2 (1) pp 81-85, 2013.
9. Kondoy S, Wullur A, Bodhi W. Potensi ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi sukrosa. *Pharmacol* 2 (3) pp 96-99, 2013.
10. Suarsana IN, Priosoeryanto BP, Bintang M, Wresdiyati, T. Profil glukosa darah dan ultrastruktur sel beta pankreas tikus yang diinduksi senyawa aloksan. *JITV* 15 pp 118-123, 2010.
11. Piroli GG, Grillo CA, Charron MJ, McEwen BS, Reagan LP. Biphasic effects of stress upon GLUT8 glucose transporter expression and trafficking in the diabetic rat hippocampus. *Brain Res.* 1006 (1) pp 28-35. 2004.
12. Sun C, Li X, Liu L, Canet MJ, Fan Y, Zhou Y. Effect of fasting time on measuring mouse blood glucose level. *Int J Clin Exp Med* 9(2) pp 4186-4189. 2016