

Efektivitas Penambahan Vitamin D terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Model Hiperglikemia dengan Terapi Glimepirid

The Effectiveness of Vitamin D Addition to Decreasing Blood Glucose Levels of Hyperglycemic Mice Model with Glimepirid Therapy

Tsintani Nur Aristiana¹, Cholis Abrori², Muhammad Ali Shodikin³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

³Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jalan Kalimantan No.37, Jember, Indonesia, 68121 e-mail korespondensi: tsintani.tna@gmail.com

Abstrak

Suplementasi vitamin D dapat meningkatkan sekresi dan kerja insulin pada pasien DM, namun belum cukup bukti untuk merekomendasikan suplemen vitamin D dalam meningkatkan kontrol glikemik pada pasien DM atau gangguan toleransi glukosa. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dengan terapi tunggal glimepirid, mencit model hiperglikemia dengan terapi vitamin D, dan mencit model hiperglikemia dengan terapi glimepirid ditambah vitamin D. Pada penelitian digunakan 25 sampel mencit yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif (K1) diinjeksi plasebo dan kelompok kontrol positif (K2) diinjeksi STZ 150 mg/kgBB i.p. Kelompok P1, P2, dan P3 diberi injeksi STZ 150 mg/kgBB i.p dan diberi glimepirid 0,26 mg/kgBB; vitamin D 6,5 ml/kgBB; glimepirid 0,26 mg/kgBB dengan suplementasi vitamin D 6,5 ml/kgBB. Hasil uji *post hoc tests Tukey* diperoleh perbedaan rata-rata delta KGD antara kelompok P1 dengan K2 sebesar 122,55; pada kelompok P2 dengan K2 sebesar 81,60; dan pada kelompok P3 dengan K2 sebesar 74,40. Kesimpulan dari penelitian ini adalah penambahan vitamin D pada glimepirid tidak lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dibandingkan dengan terapi tunggal glimepirid maupun dengan terapi vitamin D.

Kata kunci: diabetes melitus, glimepirid, *streptozotocin*, vitamin D

Abstract

Vitamin D supplementation can increase insulin secretion and action in DM patients, but there is not enough evidence to recommend vitamin D supplements in improving glycemic control in DM patients or impaired glucose tolerance. This study aims to compare the effectiveness of reducing fasting blood glucose levels in mice hyperglycemia models with single glimepirid therapy, mice hyperglycemia models with vitamin D therapy, and hyperglycemia model mice with glimepirid therapy plus vitamin D. In this study 25 mice samples grouped into five groups. The negative control group (K1) injected with a placebo and the positive control group (K2) was injected with STZ 150 mg/kg i.p. Groups P1, P2, and P3 were given STZ 150 mg / kgB.p injection and given 0.26 mg / kg BW glimepirid; vitamin D 6.5 ml / kg; glimepiride 0.26 mg / kg body weight with vitamin D supplementation of 6.5 ml / kg body weight. Tukey's post hoc tests results obtained an average difference of KGD delta between groups P1 and K2 of 122.55; in the P2 group with K2 of 81.60; and in group P3 with K2 of 74.40. The conclusion of this study is that the addition of vitamin D to glimepirid is not more effective in reducing fasting blood glucose levels in hyperglycemic mice than either single glimepirid therapy or with vitamin D therapy.

Keywords: diabetes melitus, glimepirid, *streptozotocin*, vitamin D

Pendahuluan

Prevalensi DM di Indonesia mengalami peningkatan dari 5,7% pada tahun 2007 menjadi 6,9% atau sekitar 9,1 juta orang penyandang DM pada tahun 2013. Seperti kondisi di dunia, DM kini menjadi salah satu penyebab kematian terbesar di Indonesia (Riskesmas, 2013). Menurut *Data Sample Registration Survey* tahun 2014 menunjukkan bahwa DM merupakan penyebab kematian terbesar nomor 3 di Indonesia dengan presentase sebesar 6,7% setelah stroke (21,1%) dan penyakit jantung koroner (12,9%). DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (PERKENI, 2015).

Menurut Achmad *et al.*, (2017) bahwa obat antidiabetes yang paling banyak digunakan adalah metformin dengan presentase 39,13% dari 69 pasien DM, glibenklamid 27,53% dan glimepirid 21,74%. Di antara ketiga obat tersebut, keamanan dan keefektifan glimepirid telah terkonfirmasi pada beberapa studi dan hal ini berhubungan dengan rendahnya risiko hipoglikemia serta kenaikan berat badan dibandingkan dengan obat golongan sulfonilurea lainnya. Glimepirid merupakan salah satu obat antidiabetes oral dari golongan sulfonilurea generasi kedua. Glimepirid bekerja dengan cara menstimulasi sel β pankreas untuk memproduksi insulin (Basit *et al.*, 2012).

Baru-baru ini, sebuah penelitian menemukan bahwa suplementasi vitamin D dapat meningkatkan indeks disposisi (sekresi dan kerja insulin) pada subyek yang berisiko tinggi terkena diabetes (Muscogiuri *et al.*, 2011). Kedua studi pada manusia maupun hewan, telah menjelaskan bahwa disfungsi sel β pankreas berhubungan dengan keadaan defisiensi *1,25 dihydroxvitamin D3* dan suplementasi vitamin ini berkontribusi pada proses konversi pro-insulin menjadi insulin (Silva *et al.*, 2014). Namun menurut George *et al.*, (2012) di dalam *systematic review* dan *meta-analysis* belum menemukan bukti yang cukup untuk merekomendasikan suplemen vitamin D untuk meningkatkan kontrol glikemik pada pasien DM atau gangguan toleransi glukosa.

Berdasarkan hal tersebut maka peneliti menggunakan vitamin D sebagai terapi adjuvan pada pasien DM dengan pengobatan glimepirid. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dengan terapi

tunggal glimepirid, mencit model hiperglikemia dengan terapi vitamin D, dan mencit model hiperglikemia dengan terapi glimepirid ditambah vitamin D.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* dengan rancangan *the randomized posttest only control group design*. Terdapat 25 sampel mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb/C dengan berat badan 20-30 g dan berumur 2-3 bulan. Setelah hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan kandang selama seminggu, hewan coba ditimbang dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara random dengan jumlah yang sama masing-masing kelompok. Kelompok K1 merupakan kelompok kontrol yang diinjeksi plasebo dan pakan standar. Untuk kelompok K2, P1, P2 dan P3 diinjeksikan STZ secara intraperitoneal dengan dosis yang sama, yaitu 150 mg/kgBB dengan pelarut buffer sitrat 22,5 mg/mL dengan pH 4,5. Setelah diinduksi, mencit diberi dextrose 10% untuk mencegah terjadinya hipoglikemia mendadak. 3 hari setelah injeksi STZ, mencit dipuaskan selama 6 jam kemudian glukosa darah mencit diukur dengan menggunakan glukometer (KGD 1). Jika hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa mencit menunjukkan angka

180-500 mg/dL maka induksi STZ berhasil menimbulkan kondisi hiperglikemia pada hewan coba (Sakinah, 2013; Liu *et al.*, 2018). Kemudian kelompok K1 dan K2 diberi plasebo. Sedangkan kelompok P1, P2, dan P3 diberi glimepirid 0,26 mg/kgBB; vitamin D 6,5 ml/kgBB; glimepirid 0,26 mg/kgBB dengan suplementasi vitamin D 6,5 ml/kgBB. Perlakuan ini dilakukan selama 14 hari, kemudian mencit dipuaskan selama 6 jam sebelum dilakukan pengukuran kadar glukosa darah yang terakhir (KGD 2).

Pada penelitian ini menggunakan uji statistik *one way Anova* dan uji *post hoc tests Tukey* untuk mengolah data berat badan mencit, hasil pengukuran KGD 1 kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan, dan data delta KGD mencit. Untuk mengetahui efek STZ pada mencit, data dianalisis menggunakan uji *independent-sample T-test*. Selain itu data juga dianalisis menggunakan uji *T paired-samples T-test* untuk mengetahui efek obat pada setiap kelompok perlakuan.

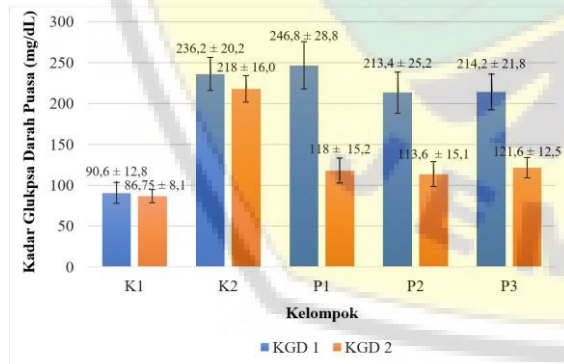
Hasil Penelitian

Pengukuran awal berat badan (BB) pada 25 ekor mencit sebagai subjek penelitian setelah diaklimatisasi selama 7 hari dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik awal sampel penelitian

Sampel Penelitian	Rata-rata BB Awal (gram \pm SD)
K1	26,17 \pm 2,97
K2	24,47 \pm 2,63
P1	24,42 \pm 1,45
P2	24,30 \pm 2,65
P3	23,18 \pm 3,70

Selanjutnya kelompok K2, P1, P2, dan P3 diinduksi STZ dengan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal. Setelah diinduksi, mencit diberi dextrose 10% untuk mencegah terjadinya hipoglikemia mendadak. Tiga hari setelah induksi STZ dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa mencit yang pertama (KGD 1). Mencit dinyatakan hiperglikemia apabila kadar glukosa darah puasa ≥ 180 mg/dL. Kemudian mencit diberi perlakuan selama 14 hari lalu dilakukan pengukuran glukosa darah puasa yang kedua (KGD 2) untuk mengetahui efek dari masing-masing perlakuan. Hasil pengukuran KGD 1 dan KGD 2 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa mencit

Keterangan:

KGD 1 : (K1) Kadar glukosa darah puasa mencit tanpa injeksi *streptozotocin*. (K2, P1, P2, P3) Kadar glukosa darah puasa mencit 3 hari setelah injeksi *streptozotocin*.

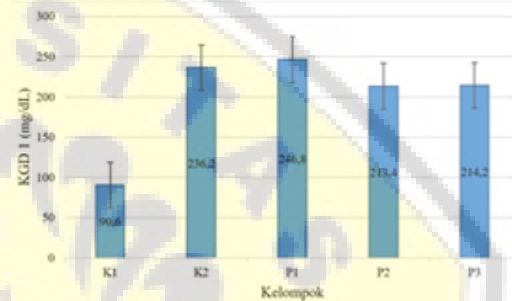
KGD 2 : (K1) Kadar glukosa darah puasa setelah 14 hari pada kelompok kontrol (-);(K2) Kadar glukosa darah puasa setelah 14 hari pada kelompok kontrol (+)

(P1) Kadar glukosa darah puasa setelah 14 hari pada kelompok glimepirid

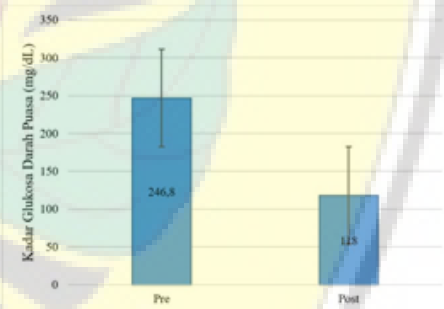
(P2) Kadar glukosa darah puasa setelah 14 hari pada kelompok vitamin D

(P3) Kadar glukosa darah puasa setelah 14 hari pada kelompok glimepirid + vitamin D

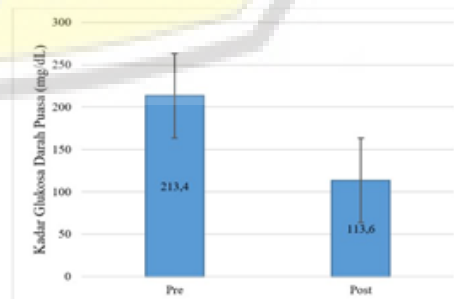
Δ KGD : Penurunan kadar glukosa darah puasa mencit (selisih antara KGD 1 dan KGD 2).



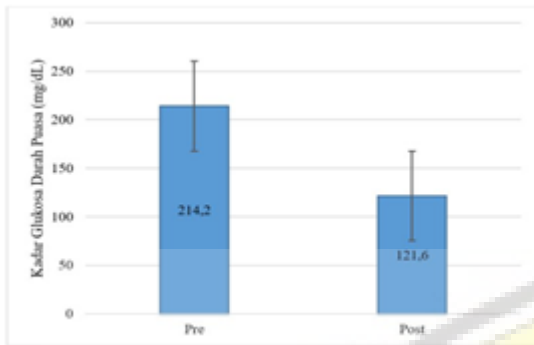
Gambar 2. Grafik rata-rata hasil pengukuran KGD 1



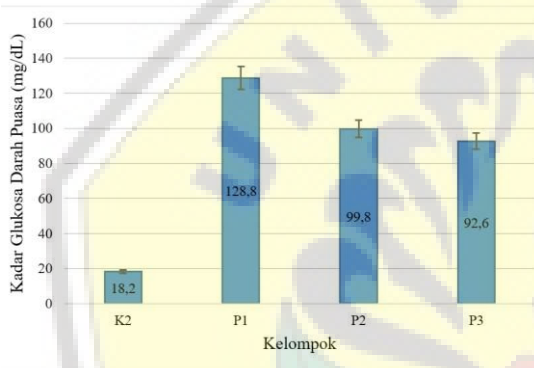
Gambar 3. Grafik rata-rata KGD pre dan post pada kelompok P1



Gambar 4. Grafik rata-rata KGD pre dan post pada kelompok P2



Gambar 5. Grafik rata-rata KGD pre dan post pada kelompok P3



Gambar 6. Grafik delta KGD pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan

Pembahasan

Rata-rata KGD 1 pada seluruh kelompok disajikan pada Gambar 2. Peneliti memilih STZ sebagai analog glukosa yang diinjeksikan pada mencit dikarenakan STZ hanya memiliki satu fase hipoglikemia dibandingkan dengan aloksan yang memiliki dua fase hipoglikemia sebelum mencapai keadaan hiperglikemia permanen. STZ secara selektif terakumulasi di dalam sel beta pankreas melalui GLUT 2 yang menimbulkan alkilasi DNA sehingga bersifat toksik terhadap sel beta pankreas. Kemudian terjadi kerusakan fungsional pada sel beta pankreas, kekurangan ekspresi gen pada DNA dan produksi protein sehingga transportasi dan metabolisme glukosa terganggu (Lenzen, 2008).

Berdasarkan hasil analisis uji T *paired-samples* T-test kelompok P1 (kelompok yang diterapi glimepirid) terdapat perbedaan yang signifikan antara KGD 1 dan KGD 2 ($p = 0,002$). Rata-rata kadar

glukosa darah puasa pre dan post pada kelompok P1 dapat dilihat pada Gambar 3.

Penurunan kadar glukosa darah puasa disebabkan karena glimepirid bekerja dengan cara menstimulasi sekresi insulin pada sel beta pankreas dan mempunyai beberapa efek ektrapankreas termasuk meningkatkan jumlah menyerap glukosa pada jaringan perifer baik pada jaringan otot maupun jaringan lemak (Hydrie *et al.*, 2006). Glimepirid berikatan dengan reseptor *channel K* sehingga terjadi penurunan permeabilitas K pada membran sel beta pankreas yang menyebabkan *channel Ca* membuka dan terjadi peningkatan Ca intrasel. Ion Ca tersebut akan berikatan dengan Calmodulin yang menyebabkan eksositosis granul yang mengandung insulin (Sudoyo *et al.*, 2006).

Rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa pada kelompok yang diberi vitamin D disajikan pada Gambar 4. Vitamin D dapat mempengaruhi kadar glukosa darah melalui proses aktivasi VDR (*Vitamin D Receptor*) di sel beta pankreas oleh *1,25 dihydroxivitamin D3*. *1,25 dihydroxivitamin D3* merupakan hormon utama yang mengatur metabolisme kalsium yang dapat menghasilkan efek pada sel beta pankreas berhubungan dengan proses sekresi dan produksi insulin (Silva *et al.*, 2014).

Hasil uji T *paired-sample* T-test pada kelompok P3 didapatkan nilai $p = 0,000$ antara KGD 1 dan KGD 2 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar glukosa darah puasa sebelum perlakuan dengan sesudah perlakuan. Pada Gambar 5 telah disajikan rata-rata hasil pengukuran KGD 1 dan KGD 2 kelompok yang diberi terapi glimepirid dengan penambahan vitamin D.

Data delta KGD pada kelompok kontrol positif (K2) dan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) dianalisis dengan menggunakan uji *one way Anova*. Hasil uji *one way Anova* dengan nilai $p = 0,000$ yang memiliki arti bahwa terdapat perbedaan secara signifikan pada delta KGD setiap kelompok kontrol positif maupun kelompok perlakuan.

Data hasil perhitungan delta KGD pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan disajikan pada Gambar 6. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa tingkat keefektivan obat dari yang terbesar sampai yang terkecil ialah kelompok P1 (kelompok yang diberi terapi

tunggal glibemipirid), kelompok P2 (kelompok yang diberi vitamin D), dan kelompok P3 (kelompok yang diberi glibemipirid dan vitamin D).

Simsek *et al.*, (2016) menyatakan bahwa kemungkinan vitamin D hanya bisa bermanfaat pada pasien dengan toleransi glukosa normal atau toleransi glukosa terganggu. Patogenesis DM tipe 2 terdiri dari resistensi insulin secara progresif, yang awalnya dikompensasi oleh peningkatan sekresi insulin oleh sel beta pankreas, sedangkan massa sel beta mulai berkurang 25-50%. Pada keadaan tersebut efek langsung dari vitamin D pada sel beta pankreas menjadi kurang efektif. Hal ini menyebabkan nilai delta KGD pada kelompok P2 (kelompok yang diberi vitamin D) setelah diberi perlakuan selama 14 hari tidak sebesar nilai delta KGD pada kelompok P1 (kelompok yang diberi glibemipirid).

Kombinasi obat akan saling memperkuat keefektifannya apabila kedua obat tersebut bekerja pada tempat yang berlainan (Syamsul *et al.*, 2011). Berdasarkan cara kerja glibemipirid dan vitamin D, keduanya dapat meningkatkan Ca intrasel sehingga dapat menimbulkan peningkatan Ca secara berlebih. Hal ini akan dikompensasi oleh tubuh melalui mekanisme kerja enzim yang menghidroksilasi vitamin D. Vitamin D dikonversi menjadi bentuk aktifnya melalui dua tahap hidroksilasi. Hidroksilasi pertama dominan dilakukan oleh enzim CYP2R1 sitokrom P450, meskipun enzim P450 lain mampu mengkatalis hidroksilasi ini, termasuk CYP27A1, CYP3A4 dan CYP2D5. 25(OH)D3 yang dihasilkan kemudian mengalami hidroksilasi di tubulus proksimal ginjal oleh enzim CYP27B1 sitokrom P450 menjadi 1,25(OH)2D3. CYP27B1 dirangsang oleh PTH dan dihambat oleh FGF23, Ca yang tinggi dan fosfat (Herrmann *et al.*, 2017; Bikle, 2014). Maka kemungkinan hasil rata-rata delta KGD pada kelompok yang diberi glibemipirid dengan penambahan vitamin D tidak dapat menandingi kelompok perlakuan yang lain disebabkan oleh mekanisme kompensasi tersebut.

Menurut Zargar (2013), glibemipirid merangsang sekresi insulin terutama pada saat puncak glukosa darah postprandial. Obat golongan sulfonilurea ini diserap dengan cepat dan konsentrasi maksimum dicapai dalam 2 hingga 3 jam di dalam darah, dan efek obat masih bertahan selama 24 jam. Sedangkan konsentrasi plasma puncak vitamin D3 dicapai 8 sampai 24 jam

setelah pemberian (Maurya & Aggarwal, 2017). Maka kemungkinan vitamin D akan lebih efektif kinerjanya apabila diberikan minimalnya 5 jam sebelum pemberian glibemipirid sehingga konsentrasi plasma keduanya dalam keadaan maksimal dan dapat bekerja secara sinergis terlepas dari kompensasi tubuh.

Keterbatasan pada penelitian ini yakni, tidak dilakukan randomisasi ulang setelah pengukuran kadar glukosa darah puasa 3 hari setelah injeksi STZ (KGD1) dan tidak dilakukan pengukuran kadar vitamin D plasma pada masing-masing hewan coba sebelum diberikan perlakuan.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa kesimpulan yaitu: pada kelompok yang diberi glibemipirid ditambah vitamin D tidak didapatkan penambahan efektivitas penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dibandingkan dengan kelompok yang diberi terapi tunggal glibemipirid dan kelompok yang diberi vitamin D saja. Namun suplementasi vitamin D tetap disarankan bagi penderita gangguan toleransi glukosa dan bagi individu yang beresiko tinggi terkena diabetes melitus. Terdapat pengaruh pemberian terapi tunggal glibemipirid, suplementasi vitamin D, dan terapi glibemipirid yang ditambah vitamin D terhadap penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek vitamin D dengan menggunakan parameter homeostatis glukosa yang lain seperti kadar glukosa darah 2 jam post prandial, TTGO, dan sensitivitas insulin. Perlu dilakukan uji klinis mengenai efek vitamin D terhadap penurunan glukosa darah sehingga vitamin D dapat dipergunakan sebagai terapi kontrol glikemik.

Daftar Pustaka

Achmad A, Putra RJS and Rachma P. 2017. Kejadian efek samping potensial terapi obat anti diabetes pasien diabetes melitus berdasarkan algoritma naranjo. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 2(2): 45-50.

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas)*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Basit A, Riaz M and Fawwad A. 2012. Glimpiride: evidence-based facts, trends, and observations. *Vascular Health and Risk Management* 8: 463–472.
- Bikle, DD. 2014. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 21(3): 319-329.
- Depkes RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. 2016. Perlunya Deteksi Dini untuk Cegah dan Kurangi Risiko Diabetes. www.depkes.go.id. [Diakses pada 01 Oktober 2018].
- George PS, Pearson ER and Witham MD. 2012. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabetic medicine* 29: e142-e150.
- Herrmann M, *et al.* 2017. Assessment of vitamin D status – a changing landscape. *Clin Chem Lab Med*. 55(1): 3–26.
- Hydrie MZI, *et al.* 2005. Glimpiride study on type-2 diabetic subjects. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 22(2): 132-135.
- Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51: 216-226.
- Liu Y, *et al.* 2018. Antidiabetic activity of polysaccharides from *Suillellus luridus* in streptozotocin-induced diabetic mice. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Maurya VK and Aggarwal M. 2017. Factors influencing the absorption of vitamin D in GIT: an overview. *Journal of Food Science and Technology*.
- Muscogiuri G, *et al.* 2012. Can vitamin D deficiency cause diabetes and cardiovascular diseases? Present evidence and future perspectives. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 22: 81-87.
- PERKENI. 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Indonesia*. Jakarta: Pengurus Besar Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PB. PERKENI).
- Pittas AG, *et al.* 2014. Rationale and design of the vitamin D and type 2 diabetes (D2d) study: a diabetes prevention trial. *Diabetes Care Journal*. 1-8.
- Sakinah EN. 2013. Pharmacodynamics study of cholecalciferol to GLUT4 protein translocation in muscle fiber of hyperglycemia mice which induced by streptozotocin. *Folia Medica Indonesiana*. 49(3): 134-138.
- Silva AP, Fragoso A and Neves PL. 2014. Relationship of vitamin D with diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Port J Nephrol Hypert*. 28(2): 000-000.
- Simsek SY, *et al.* 2016. The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in patients with Type 2 Diabetes Mellitus: a systematic review and meta- analysis. *European Society of Endocrinology*: 1-36.
- Sudoyo, *et al.* 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi V Jilid III*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Syamsul ES, Nugroho AE and Pramono S. 2011. *Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (Andrographis paniculata (Burn.F.)NESS.) dan Metformin pada Tikus DM Tipe 2 Resisten Insulin*. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3): 124-131.
- Zargar AH. 2013. *Oral Hypoglycemic Agents-ECAB Clinical Update: Diabetology*. Elsevier: Health Sciences.