

KORELASI ANTARA EKSPRESI GLUT4 NEURON HIPOKAMPUS DAN TRAVEL TIME TIKUS MODEL DIABETES TIPE 2 PADA PEMERIKSAAN MORRIS WATER MAZE DENGAN WAKTU PENGAMATAN YANG BERBEDA

Hifdzil Haq Mulyana¹, A.A Ayu Niti Wedayani¹, Herpan Syafii Harahap¹

Abstrak

Latar Belakang: Diabetes adalah penyakit metabolik kronis yang dapat mengganggu fungsi organ tubuh terutama otak. Kejadian diabetes di Indonesia pada usia 15 tahun ke atas meningkat dua kali lipat di tahun 2013 dibandingkan tahun 2007. Pada diabetes melitus menunjukkan terdapat perubahan kadar protein GLUT4 di otak. Perubahan ini diduga memiliki peran penting dalam menjalankan fungsi kognitif. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui korelasi yang bermakna antara ekspresi GLUT4 neuron hipokampus dan *travel time* tikus model diabetes tipe 2 dengan pemeriksaan *morris water maze* pada waktu pengamatan yang berbeda.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan 16 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi secara acak menjadi 4 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol (A0 dan A1), dan 2 kelompok perlakuan (B0 dan B1). Tikus dilatih fungsi kognitifnya dengan *morris water maze* selama 4 hari. Kelompok perlakuan diinduksi diabetes dengan nikotinamid 110 mg/kgBB dan *streptozotocin* 70 mg/kgBB dosis tunggal secara intraperitoneal. Data dianalisis menggunakan uji statistik *t-test*, Pearson dan Spearman.

Hasil: Rerata ekspresi GLUT4 kelompok tikus diabetik signifikan lebih tinggi pada pengamatan hari ke-14. Rerata ekspresi GLUT4 signifikan lebih tinggi pada kelompok diabetik dibandingkan kelompok kontrol pada pengamatan hari ke-14 ($p < 0,05$). Rerata *travel time* tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada semua pengamatan ($p > 0,05$). Hasil uji korelasi tidak menunjukkan nilai yang signifikan pada pengamatan hari ke-0 maupun hari ke-14 ($p > 0,05$).

Kesimpulan: Tidak terdapat korelasi bermakna antara ekspresi GLUT4 neuron hipokampus dan *travel time* tikus model diabetes tipe 2 dengan pemeriksaan *morris water maze* pada waktu pengamatan hari ke-0 dan ke-14.

Kata Kunci: GLUT4, *travel time*, diabetes

¹Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

*e-mail hifdzilmulyana@gmail.com

1. Pendahuluan

Diabetes merupakan salah satu penyakit dengan angka kejadian yang cenderung meningkat setiap tahunnya. Pada tahun 2011 penderita diabetes mencapai 366 juta, dan diperkirakan pada tahun 2030 penderita diabetes akan mencapai 552 juta orang di seluruh dunia.¹ Di Indonesia

menurut data Riskesdas tahun 2013, terjadi peningkatan proporsi penderita diabetes melitus untuk penduduk di atas 15 tahun hampir 2 kali lipat dibandingkan tahun 2007.²

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia) akibat defisiensi maupun

gangguan peran dari hormon insulin. Keadaan hiperglikemia yang kronis dapat menyebabkan komplikasi yang mengganggu dan merusak berbagai sistem organ.³ Diabetes memiliki beberapa komplikasi, baik komplikasi akut maupun komplikasi kronis. Salah satu bentuk komplikasi kronik yang sering terjadi adalah penurunan fungsi kognitif seperti demensia.⁴

Perubahan fungsi kognitif dapat terjadi pada penderita diabetes melitus, ditandai dengan perubahan struktur pada bagian otak. Penderita diabetes tipe 1 maupun 2 menunjukkan penurunan fungsi kognitif yang sedang hingga berat.⁵ Pasien dengan diabetes tipe 1 lebih cenderung mengalami perlambatan kecepatan mental dan psikomotor dibandingkan non-diabetes, sementara itu fungsi belajar, memori dan pemecahan masalah tidak terlihat mengalami gangguan.^{5,6}

Salah satu struktur otak yang berperan dalam fungsi kognitif adalah hipokampus. Hipokampus berperan dalam konsolidasi memori deklaratif, memori jangka panjang, atau memori episodik yang sangat berkaitan dengan kegiatan dalam kehidupan sehari-hari.^{7,8} Hiperglikemia yang terjadi akibat gangguan produksi insulin dapat memengaruhi sejumlah sel pada daerah hipokampus, sedangkan kondisi hipoglikemia akibat terapi insulin dapat menyebabkan kematian sel neuron.⁹

Jalur sinyal dari insulin merupakan suatu jalur kompleks yang sepenuhnya belum diketahui. Salah satu yang berperan dalam jalur sinyal ini adalah *Glucose transporter 4* (GLUT4).¹⁰ Selain dihasilkan

di otot, jantung atau jaringan adiposa, GLUT4 juga dihasilkan di otak (hipokampus). Konsentrasi insulin pada otak akan memengaruhi kadar protein GLUT4.¹¹

Pada penelitian yang dilakukan Harahap dkk. (2019) menunjukkan bahwa kadar GLUT4 neuron hipokampus pada kelompok tikus diabetik meningkat signifikan pada hari ke-14 dibandingkan kelompok kontrol, peningkatan ekspresi GLUT4 ini mungkin berpengaruh terhadap hipokampus dalam menjalankan fungsi kognitif seperti konsolidasi memori.¹² Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekspresi GLUT4 pada hipokampus terhadap fungsi kognitif.

Penggunaan tikus sebagai hewan coba dalam pemeriksaan fungsi kognitif dapat dievaluasi menggunakan berbagai metode pemeriksaan, salah satunya adalah *morris water maze*. *Morris water maze* (MWM) sering digunakan dalam menilai berbagai jenis memori, salah satunya memori spasial. Metode ini dapat menilai defisit memori spasial lebih awal dan terus berlanjut selama proses pembelajaran.¹³

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai korelasi antara ekspresi GLUT4 neuron hipokampus dan fungsi kognitif yang dinilai melalui *travel time* tikus model diabetes tipe 2 pada pemeriksaan *morris water maze*.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Desain penelitian yang digunakan adalah *posttest-only control*

design. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi yang bermakna antara ekspresi GLUT4 neuron hipokampus dan *travel time* tikus model diabetes tipe 2 pada pemeriksaan *morris water maze* dengan waktu pengamatan hari ke-0 dan 14.

Penelitian dilakukan pada bulan Mei sampai dengan Desember 2019 di Laboratorium Farmakologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Laboratorium Histologi dan Biologi Sel Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Populasi yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan, berusia 2-3 bulan, berat badan antara 120-200 gram, dan sehat tanpa cacat fisik. Sebanyak 16 ekor tikus putih dibagi menjadi 4 kelompok percobaan, yaitu 2 kelompok kontrol (A0 dan A1) dan 2 kelompok perlakuan (B0 dan B1).

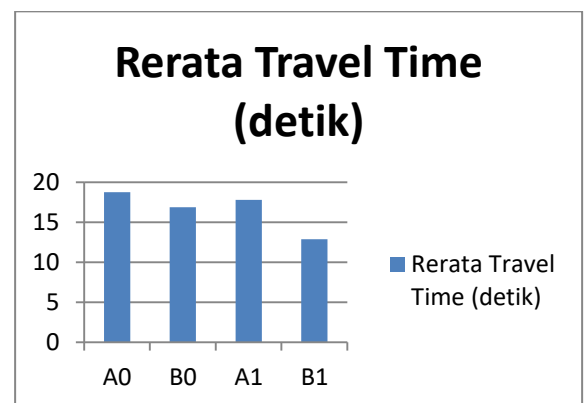
Variabel yang diteliti adalah ekspresi GLUT4 neuron hipokampus dan *travel time* tikus selama pemeriksaan MWM. Data yang diperoleh melalui intensitas GLUT4, serta waktu tempuh pada pemeriksaan MWM yaitu berupa data rasio. Semua data diolah menggunakan program analisis statistik SPSS versi 16. Data kemudian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel <50. Data rerata *travel time* pada penelitian ini tidak semuanya terdistribusi normal dan bersifat homogen sehingga analisis hasil menggunakan uji parametrik (t berpasangan dan t tidak berpasangan) dan uji non parametrik (*Mann Whitney* dan *Wilcoxon*). Untuk data rerata ekspresi GLUT4 terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan analisis hasil dengan

uji parametrik (t berpasangan dan t tidak berpasangan). Korelasi antar variabel pada data terdistribusi normal dianalisis menggunakan uji statistik *Pearson*, sedangkan data yang tidak terdistribusi normal dengan uji statistik *Spearman*.

3. HASIL

3.1. *Travel Time* pada Pemeriksaan Fungsi Kognitif dengan Metode MWM

Data rerata *travel time* pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada diagram di bawah ini:



Gambar 1. Rerata *Travel Time* pada Masing-Masing Kelompok

Keterangan :

A0: Kelompok kontrol yang tidak diinduksi NA 110 mg/kgBB dan STZ 70 mg/kgBB, dan diterminasi hari ke-0.

A1: Kelompok kontrol yang tidak diinduksi NA 110 mg/kgBB dan STZ 70 mg/kgBB, dan diterminasi hari ke-14.

B0: Kelompok perlakuan yang diinduksi NA 110 mg/kgBB dan STZ 70mg/kgBB, dan diterminasi hari ke-0.

B1: Kelompok perlakuan yang diinduksi NA 110 mg/kgBB dan STZ 70mg/kgBB, dan diterminasi hari ke-14.

Setelah memasukkan data ke *software* statistik, maka data tersebut dianalisis secara deskriptif dan analitik. Hasil uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas data rerata *travel time* seperti pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas Data Rerata *Travel Time*

Kel	Jumlah Unit Replikasi	Rerata (detik) ± Standar Deviasi	p
A0	4	18,75±6,90	0,363
A1	4	17,81±10,73	0,684
B0	4	16,88±13,18	0,026
B1	4	12,88±10,64	0,151

Tabel 2. Hasil Uji Homogenitas Rerata *Travel Time*

Variabel	P
<i>Travel Time</i>	0,788

Berdasarkan tabel 1, dapat dilihat bahwa rerata tertinggi terdapat pada kelompok A0 sehingga *travel time* kelompok A0 lebih lama bila dibandingkan dengan kelompok lain. Nilai rerata terendah adalah kelompok B1 sehingga *travel time* kelompok B1 lebih cepat dibandingkan dengan kelompok lainnya. Pada tabel tersebut menunjukkan terdapat 1 data tidak terdistribusi normal yaitu pada kelompok B0 dengan $p < 0,05$. Pada tabel 2 diperoleh nilai $p > 0,05$ yang berarti data tersebut bersifat homogen dan sekaligus memenuhi syarat untuk dilakukan uji t.

Uji t tidak berpasangan dilakukan antara kelompok A1 dan B1, sedangkan uji non-parametrik *Mann Whitney* dilakukan antara kelompok A0 dan B0. Untuk kelompok A0 dan A1 dilakukan uji hipotesis menggunakan uji t berpasangan, sedangkan antara kelompok B0 dan B1 dilakukan uji *Wilcoxon* untuk mengetahui perbedaan nilai *travel time* pada pengamatan hari ke-0 dan 14. Hasil uji

hipotesis yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Uji Rerata Beda *Travel Time* pada Pemeriksaan Fungsi Kognitif

Kelompok	p
A0-A1	0,914*
A0-B0	0,309**
A1-B1	0,538***
B0-B1	0,465****

*Uji t berpasangan

***Mann Whitney*

***Uji t tidak berpasangan

*****Wilcoxon*

Hasil uji hipotesis pada tabel di atas dengan menggunakan uji *Mann Whitney* dan uji t tidak berpasangan diperoleh nilai $p > 0,05$ baik antara kelompok A0 dan B0 maupun antara kelompok A1 dan B1. Uji hipotesis t berpasangan dan *Wilcoxon* diperoleh nilai $p > 0,05$ baik antara kelompok A0 dan A1 maupun antara kelompok B0 dan B1. Nilai $p > 0,05$ antara kelompok A0 dan A1 dapat diinterpretasikan bahwa *travel time* pada kelompok kontrol hari ke-0 tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol hari ke-14, sedangkan nilai $p > 0,05$ antara kelompok B0 dan B1 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara *travel time* kelompok tikus diabetik pengamatan hari ke-0 dan ke14.

Kemudian dilanjutkan uji perbedaan rerata *travel time* masing-masing kuadran antara kelompok A0 dan A1, A0 dan B0, A1 dan B1, B0 dan B1. Hasil uji perbedaan tersebut adalah sebagai berikut:

Tabel 4. Uji Rerata Beda *Travel Time* Masing-Masing Kuadran

Kuadran	Kelompok	p
1	A0-A1*	0,588
	A0-B0**	0,663
	A1-B1***	0,530
	B0-B1****	0,715
2	A0-A1*	0,863
	A0-B0**	0,885
	A1-B1***	0,977
	B0-B1****	0,465
3	A0-A1*	0,634
	A0-B0**	0,081
	A1-B1***	0,293
	B0-B1****	1,000
4	A0-A1*	0,433
	A0-B0**	0,468
	A1-B1***	0,594
	B0-B1****	0,357

*uji t berpasangan

***Mann Whitney*

***uji t tidak berpasangan

*****Wilcoxon*

Dari tabel di atas menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan rerata *travel time* masing-masing kuadran antar kelompok ($p > 0,05$). Kemudian untuk mengetahui lebih lanjut apakah terdapat perbedaan rerata *travel time* antar masing-masing kuadran pada kelompok B0 dan B1, maka dilakukan uji rerata beda *travel time* antar masing-masing kuadran pada kelompok B0 dengan uji Kruskal Wallis dan kelompok B1 dengan uji Tukey.

Hasil uji pada tabel 5 dan 6 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan bermakna pada rerata *travel time* antar masing-masing kuadran baik pada kelompok B0 maupun B1 ($p > 0,05$). Semua hasil uji di atas menunjukkan bahwa meskipun pemeriksaan fungsi kognitif diperpanjang hingga 14 hari tidak memberikan efek berbeda signifikan pada *travel time* untuk masing-masing kelompok percobaan.

Tabel 5. Uji Rerata Beda Kruskal Wallis *Travel Time* Kelompok B0

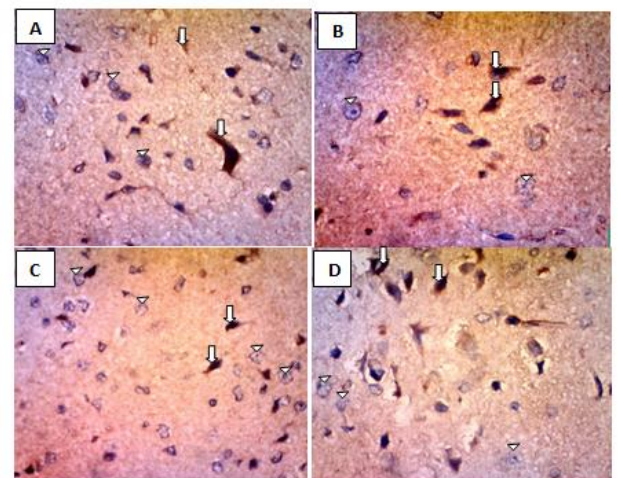
Kelompok	p
K1-K2-K3-K4	0,289

Tabel 6. Uji Rerata Beda Tukey *Travel Time* Kelompok B1

		p
K1	K2	0,991
	K3	0,502
K2	K4	0,351
	K3	0,670
K3	K4	0,502
	K4	0,991

3.2. Ekspresi GLUT4 Neuron Hipokampus pada Pemeriksaan Immunohistokimia

Setelah pengambilan organ sampel, selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunohistokimia. Hasil pewarnaan imunohistokimia tersebut dapat dilihat seperti pada gambar 2.

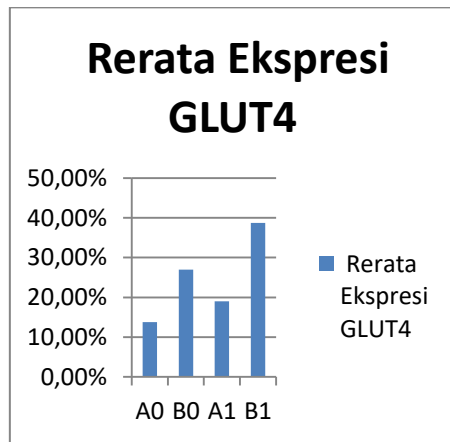


Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Immunohistokimia GLUT4 Antar Kelompok

Keterangan:

- A. Pemeriksaan imunohistokimia ekspresi GLUT4 pada kelompok A0
- B. Pemeriksaan imunohistokimia ekspresi GLUT4 pada kelompok A1
- C. Pemeriksaan imunohistokimia ekspresi GLUT4 pada kelompok B0
- D. Pemeriksaan imunohistokimia ekspresi GLUT4 pada kelompok B1

Selanjutnya dilakukan penghitungan dari hasil pemeriksaan imunohistokimia dengan metode hitung pada 3 area berbeda dengan perbesaran mikroskop 400x.¹⁴ Data rerata ekspresi GLUT4 neuron hipokampus pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Rerata Ekspresi GLUT4 Neuron Hipokampus

Setelah memasukkan data ke *software* statistik, maka data tersebut dianalisis secara deskriptif dan analitik. Hasil uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas data rerata GLUT4 seperti pada tabel berikut:

Tabel 7. Hasil Uji Normalitas Data Rerata GLUT4 Neuron Hipokampus

Kel	Jumlah Unit Replikasi	Rerata Ekspresi GLUT4 (%) ± Standar Deviasi	p
A0	4	13,75±3,30	0,900
A1	4	19,00±5,59	0,479
B0	4	27±11,28	0,692
B1	4	38,75±13,94	0,696

Tabel 8. Hasil Uji Homogenitas Rerata Ekspresi GLUT4 Neuron Hipokampus

Variabel	p
Ekspresi GLUT4	0,088

Tabel 7 menunjukkan bahwa rerata ekspresi GLUT4 tertinggi terdapat pada kelompok B1, sedangkan nilai rerata terendah adalah kelompok A0. Pada tabel di atas menunjukkan nilai $p > 0,05$ dengan demikian data terdistribusi normal pada masing-masing kelompok baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Berdasarkan tabel 8 di atas diperoleh nilai $p > 0,05$ yang berarti data tersebut bersifat homogen dan sekaligus memenuhi syarat untuk dilakukan uji t.

Untuk mengetahui perbedaan kadar ekspresi GLUT4 dilakukan uji hipotesis menggunakan uji t tidak berpasangan antara kelompok A0 dan B0 dan antara kelompok A1 dan B1, sedangkan antara kelompok A0 dan A1, B0 dan B1 dilakukan uji t berpasangan. Hasil uji hipotesis yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Tabel 9. Uji Beda terhadap Ekspresi GLUT4 Neuron Hipokampus

Kelompok	p
A0-B0	0,065*
A1-B1	0,039*
A0-A1	0,196**
B0-B1	0,006**

* Uji t tidak berpasangan

**Uji t berpasangan

Hasil uji hipotesis pada tabel di atas dengan menggunakan uji t tidak berpasangan untuk rerata ekspresi GLUT4 antara kelompok A0 dan B0 tidak

menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,065$), sedangkan antara kelompok A1 dan B1 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0,039$). Uji *t* berpasangan untuk rerata ekspresi GLUT4 antara kelompok B0 dan B1 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0,006$).

Setelah itu, dilakukan uji korelasi antara hasil rerata ekspresi GLUT4 dan rerata *travel time* pada tiap kelompok percobaan dengan tujuan mencari korelasi antara masing-masing variabel tersebut. Data yang terdistribusi normal dan homogen dilakukan uji korelasi Pearson, sedangkan data yang tidak terdistribusi normal atau tidak homogen dilakukan uji korelasi Spearman. Hasil uji hipotesis yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Tabel 10. Hasil Uji Korelasi antara Rerata Ekspresi GLUT4 dan Rerata *Travel*

Kelompok	p
A0	0,605*
A1	0,691*
B0	0,200**
B1	0,251*

*Uji Pearson

**Uji Spearman

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$ pada semua kelompok. Hal ini menandakan bahwa tidak terdapat korelasi yang signifikan bermakna antara rerata ekspresi GLUT4 dan rerata *travel time* pada masing-masing kelompok percobaan.

4. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini komponen fungsi kognitif yang dinilai yaitu waktu tempuh (*travel time*) hewan coba dalam menemukan *platform* pada instrumen pemeriksaan MWM. *Travel time* dengan nilai tertinggi yaitu adalah kelompok A0. Kelompok A0 adalah kelompok kontrol yang tidak diinduksi *streptozotocin* dan nikotinamid dan diterminasi pada saat kelompok hewan diabetik terkonfirmasi (hari ke-0), sedangkan nilai terendah yaitu kelompok B1 yang merupakan kelompok perlakuan yang diinduksi *streptozotocin* dan nikotinamid, kemudian diterminasi 14 hari setelah keadaan diabetik terkonfirmasi (hari ke-14). Nilai rerata *travel time* pada kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-0 (A0 dan B0) dapat dilihat bahwa rerata *travel time* pada kelompok A0 lebih tinggi dibandingkan kelompok B0. Pada perbandingan kelompok kontrol dan perlakuan hari ke-14 (A1 dan B1), nilai rerata *travel time* pada kelompok A1 lebih tinggi dibandingkan kelompok B1. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbandingan nilai rerata *travel time* memiliki nilai lebih baik pada kelompok perlakuan, meskipun pada hasil analisis data nilai tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Perbandingan rerata nilai *travel time* antara kelompok A1 dan B1 pada uji hipotesis tidak menunjukkan nilai yang berbeda secara signifikan.

Pada uji perbedaan masing-masing kuadran antar kelompok juga tidak menunjukkan hasil yang signifikan, begitupun sebaliknya dengan uji beda masing-masing kuadran pada kelompok

tikus diabetik pengamatan hari ke-0 dan ke-14 ($p>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemeriksaan fungsi kognitif dengan instrumen MWM pada hari ke-0 dan ke-14 tidak memiliki perbedaan yang bermakna pada *travel time* hewan coba model diabetes.

Penelitian sebelumnya oleh Chang *et al.* (2013) menunjukkan terjadi peningkatan fungsi kognitif tikus model diabetes tipe 2 pada 7 hari pemeriksaan MWM.¹⁵ Hal tersebut sesuai dalam penelitian ini yang menunjukkan kelompok diabetik memiliki rerata *travel time* lebih baik dibandingkan kelompok kontrol meskipun hasil uji statistik menunjukkan nilai yang tidak signifikan ($p>0,05$). Penelitian lainnya oleh Reisi *et al.* (2009) menunjukkan bahwa penurunan fungsi kognitif pada tikus terjadi pada minggu ke-8 atau maksimum minggu ke-12 setelah induksi diabetes.¹⁶

Waktu tempuh tikus untuk menemukan *platform* mungkin dipengaruhi oleh memori spasial yang terbentuk selama proses pembelajaran. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya oleh Craver dan Darden (2001) menemukan bahwa terdapat beberapa hal yang dapat dinilai pada pemeriksaan fungsi kognitif dengan menempatkan *platform* tersembunyi di bawah permukaan air pada pemeriksaan MWM. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tikus mengetahui lokasi *platform* dengan mempelajari secara khusus terhadap penanda visual yang diletakkan pada masing-masing kuadran.¹⁷ Hal ini menandakan terdapat fungsi dari memori spasial sehingga dari proses belajar terhadap lingkungan sekitar tikus dapat

mengarahkan dirinya berenang menuju *platform*.

Pada proses belajar dengan instrumen MWM terjadi peningkatan regulasi transkripsi gen yang berhubungan dengan *synaptic plasticity*. *Sinophilin* merupakan subunit regulasi untuk *protein phosphatase 1*, yang merupakan enzim yang berkaitan dengan penguatan sinaps. *Activity-regulated cytoskeleton-associated protein* merupakan gen yang paling awal diekspresikan akibat diinduksi aktivitas. *Neurogranin* (RC3) menjadi penilaian penting dari keberadaan kalmodulin. Ketiga gen tersebut memiliki peran penting dalam terbentuknya memori jangka panjang dan proses kognitif.¹⁸ Kemungkinan keadaan regulasi gen ini semakin meningkat akibat pengaruh latihan diawal pada semua kelompok sebelum dilakukannya induksi *streptozotocin*. Hal ini juga memungkinkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada waktu tempuh untuk masing-masing kelompok hewan coba.

GLUT4 merupakan salah satu marker yang dapat dinilai dalam suatu proses dan regulasi fungsi kognitif terutama di hipokampus. Kadar GLUT4 pada neuron hipokampus dipengaruhi oleh jalur persinyalan insulin yaitu baik kadar insulin maupun reseptor insulin. Reseptor insulin α -*isoform* merupakan bentuk reseptor insulin yang banyak ditemukan pada neuron hipokampus, ikatan insulin dengan reseptor ini akan mengakibatkan translokasi GLUT4 di hipokampus.¹⁹ Hasil penelitian ini menunjukkan rerata ekspresi GLUT4 pengamatan hari ke-14 secara signifikan lebih tinggi dibandingkan hari ke-0 pada

kelompok diabetik, begitu juga dengan kelompok diabetik secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol pada pengamatan hari ke-14. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Harahap dkk. (2009) menunjukkan bahwa kadar GLUT4 neuron hipokampus kelompok diabetik meningkat signifikan pada hari ke-14 dibandingkan kelompok kontrol.¹² Seperti dijelaskan sebelumnya bahwa terdapat peran insulin dalam translokasi GLUT4 di neuron hipokampus, maka temuan tersebut kemungkinan akibat terjadi regenerasi parsial pada sel β pankreas.

Pada manusia dan hewan pengerat terdapat perbedaan struktur maupun molekul dari pulau langerhans. Beberapa kondisi fisiologis maupun patologis pada hewan pengerat dapat menyebabkan peningkatan proliferasi sel β , seperti defisiensi sel β akibat kerusakan jaringan. Replikasi sel β dimediasi oleh berbagai jalur persinyalan mitogenik, seperti *extendin-4* dan *glucagon-like peptide 1* (Glp-1). Kondisi ini menyebabkan efek mitogenik pada proliferasi sel β . Sinyal mitogenik menstimulasi sel β masuk kembali ke siklus sel dengan regulasi dari pengaktifan aktivasi siklus sel (*cyclin* dan *cyclin-dependent kinase 1*) dan faktor transkripsi (Tfs) melalui jalur *cAMP-dependent calcineurin/Nfat*. Selain itu, terdapat juga hubungan antara jaringan hepar dan pankreas pada keadaan resistensi insulin dalam memodulasi perkembangan sel β . Pada hewan model resistensi insulin, *SerpinB1* disekresikan dari sel-sel hepar, dan bersifat parsial serupa dengan

GW311616A yang menghambat aktivitas elastase dan meningkatkan proliferasi sel β dengan mengaktivasi sinyal *growth factors* (GFs) seperti Hgf, Igf1, dan Igf2.²⁰

Selain itu, GLUT4 tidak semata-mata hanya diregulasi oleh insulin melainkan juga diregulasi oleh reseptor lain. Terdapat peran reseptor tirosin kinase (*insulin-like growth factor-1 receptors* dan *TrkB receptors*) dan reseptor lainnya dalam regulasi GLUT4 selama pembentukan dan proses memori. Translokasi GLUT4 juga dipengaruhi oleh sejumlah persinyalan *post-receptor* dalam menjaga memori jangka panjang seperti *insulin-like growth factor 2*, faktor neurotropik otak, *calmodulin-dependent protein kinase II*, *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K), protein kinase A, MAPK, protein kinase- λ .¹⁹

Berdasarkan hasil analisis statistik pada penelitian ini menunjukkan tidak terdapat korelasi yang bermakna antara rerata ekspresi GLUT4 dan rerata *travel time* pada setiap kelompok percobaan. Hal tersebut ditunjukkan pada hasil uji korelasi Pearson untuk kelompok A0, A1, dan B1 nilai $p > 0,05$. Uji korelasi Spearman pada kelompok B0 juga tidak menunjukkan korelasi yang bermakna ($p > 0,05$). Tidak adanya korelasi antara ekspresi GLUT4 dan *travel time* tikus model diabetes mungkin disebabkan oleh beberapa hal seperti dijelaskan sebelumnya sehingga dengan tidak adanya perbedaan *travel time* antar kelompok dapat mempengaruhi nilai korelasi terhadap GLUT4. Hal ini juga sesuai dengan penjelasan sebelumnya bahwa penurunan fungsi kognitif pada tikus dapat terjadi pada minggu ke-8 setelah

induksi diabetes sehingga dapat menjadi dasar pertimbangan untuk menilai ekspresi GLUT4 dan korelasinya terhadap fungsi kognitif pada pemeriksaan MWM.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data serta pembahasan yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi GLUT4 neuron hipokampus dan *travel time* tikus model diabetes tipe 2 pada pemeriksaan MWM. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan rerata ekspresi GLUT4 kelompok tikus diabetik pada pengamatan hari ke-0 dan ke-14 serta antara kelompok kontrol dan diabetik pada hari ke-14, namun tidak pada rerata *travel time*. Diperoleh bahwa meskipun pemeriksaan fungsi kognitif dan GLUT4 dilakukan hingga 14 hari tidak memberikan efek signifikan bermakna pada perbedaan *travel time* pada masing-masing kelompok maupun korelasinya terhadap ekspresi GLUT4.

DAFTAR PUSTAKA

- Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review Current Trends. Oman Medical Journal. 2012;27:269-273.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI: Infodatin.2014.
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care Journals. 2014;37: S81-S90.
- Forbes JM, Cooper ME. Mechanism of Diabetic Complications. Physiol Rev. 2013;93:137-188.
- Munshi MN. Cognitive Dysfunction in Older Adults With Diabetes: What a Clinician Needs to Know. Diabetes Care. 2017;40:461-467.
- Moheet A, Mangia S, Seaquist ER. Impact of diabetes on cognitive function and brain structure. Ann NY Acad Sci. 2015;1353:60-71.
- Rubin RD, Watson PD, Duff MC, Cohen NJ. The role of hippocampus in flexible cognition and social behavior. Human Neuroscience. 2014;8.
- Yau S, Mohapel JG, Christie BR, So KF. Physical Exercise-Induced Adult Neurogenesis: A Good Strategy to Prevent Cognitive Decline in Neurodegenerative Diseases? Biomed Research International. 2014;.
- Murray M, Stanley M, Lugar HM, Hersley T. Hippocampal Volume in Type 1 Diabetes. European Endocrinology. 2014;10(1):14-17.
- Ankawa R. Is the Effect of Glucose on Hippocampal Memory Insulin-Dependent? Biological Sciences. 2016;32.
- Reno CM, Puente EC, Sheng Z, Iken DD, Bree AJ, Routh VH, Kahn BB, Fisher, S.J. Brain GLUT4 Knockout Mice Have Impaired Glucose Tolerance, Decreased Insulin Sensitivity, and Impaired Hypoglycemic Counterregulation. Diabetes Journals. 2017;66:587-597.
- Harahap, H.S., Padauleng, N., Nurhidayati, dan Ekawanti, A. Ekspresi GLUT4 pada Neuron Hipokampus Rattus norvegicus Diabetik yang Diinjeksi Streptozotocin dan Nicotinamide. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2019;30 (3):197-201.
- Schaar, K.L., Brenneman, M.M., Savitz, S.I. Functional assessments in the rodent stroke model. Experimental & Translational Stroke Medicine. 2010;2(13).
- Sompuram, S.R., Vani, K., Schaedle, A.K., Balasubramanian, A., Bogen, S.A. Quantitative Assessment of Immunohistochemistry Laboratory Performance by Measuring Analytic Response Curves and Limits of Detection. Arch Pathol Lab Med. 2018;142:851-862.
- Chang, X.H., Liang, L.N., Zhan, L.B., Lu, X.G., Shi, X., Qi, X., Feng, Z.L., Wu, M.J., Sui, H., Zheng, L.P., Zhang, F.L., Sun, J., Bai, C.C., Li, N., Han, G.Z. The Effect of Chinese Jinzhida recipe on the hippocampus in a rat model of diabetes-associated cognitive decline. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2013;13.
- Reisi, P., Alaei, H., Babri, S., Sharifi, M.R., Mohaddes, G. Effects of treadmill running on spatial learning and memory in streptozotocin induced diabetic rats. Neuroscience Letters. 2009;455:79-83.
- Craver, C., & Darden, L. Discovering mechanism in neurobiology: The case of spatial memory. In P.K. Machamer, R. Grush, & P. McLaughlin (Eds), Theory and method in the neurosciences. Pittsburgh: University of Pittsburgh Press. 2001;p.112-136.
- Barnhart, C.D., Yang, D., Lein, P.J. Using the Morris Water Maze to Assess Spatial Learning and Memory in Weanling Mice. Plos One. 2015;10(4):1-16.
- McNay, E.C., Leary, J.P. GLUT4: A central player in hippocampal memory and brain insulin resistance. Experimental Neurology. 2019;323.
- Zhong, F., Jiang, Y. Endogenous Pancreatic B cell Regeneration: A Potential Strategy for the Recovery of B Cell Deficiency in Diabetes. Frontiers in Endocrinology. 2019;10(101).