

Aterosklerosis pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi dengan Insulin Eksogen**Atherosclerosis in White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by Exogenous Insulin****Teguh Suprihatin, Widya Millatina Fazwah, Silvana Tana***

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Jacob Rais, Tembalang, Semarang, 50275

*Email: silvanatana@yahoo.co.id

Diterima 30 Juni 2022 / Disetujui 14 November 2023

ABSTRAK

Insulin memiliki peran mendasar dalam pengendalian proses seluler dan fisiologis. Paparan berlebih insulin menyebabkan resistensi insulin, hiperinsulinemia, dan hiperglikemia. Penggunaan insulin pada pasien penderita DM rentan menyebabkan terjadinya resistensi insulin yang bisa memperparah kondisi pasien. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh pemberian injeksi insulin eksogen terhadap tikus wistar (*Rattus norvegicus* L.). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan 21 ekor *Rattus norvegicus* L. jantan berumur 21 hari yang dibagi dalam 3 kelompok perlakuan dengan 7 kali ulangan. P0 merupakan kontrol, P1 diinjeksi insulin eksogen 1,80 IU/200gBB setiap hari selama 14 hari, dan P2 diinjeksi insulin eksogen 1,80 IU/200gBB setiap hari selama 28 hari. Perlakuan diberikan selama 1 bulan. Pembedahan dilakukan setelah perlakuan berakhir untuk pembuatan preparat, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran diameter dan lumen dari aorta dan arteri coronaria, serta ketebalan dinding aorta dan arteri coronaria. Data penelitian dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tidak nyata ($P>0.05$) pada lebar diameter arteri coronaria dan aorta, lebar lumen arteri coronaria dan aorta, ketebalan tunika intima, media dan adventisia arteri coronaria dan aorta serta ukuran sel otot jantung. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa injeksi insulin eksogen tidak menimbulkan penebalan aterosklerosis pada *Rattus norvegicus* L.

Kata kunci : insulin eksogen, resistensi insulin, aterosklerosis, Rattus norvegicus L.

ABSTRACT

Insulin has a fundamental role in control of cellular and physiological processes. Overexposure to insulin causes insulin resistance, hyperinsulinemia, and hyperglycemia. This study was to analyze the effect of exogenous insulin injection to white rats (*Rattus norvegicus* L.). This is an experimental study with a completely randomized design, using 21 male *Rattus norvegicus* L. 21 days old which were divided into 3 treatment groups with 7 replications. P0 is the control groups, P1 is exogenous insulin injection 1.80 IU/200gBW/day for 14 days, and P2 is exogenous insulin injection 1.80 IU/200gBW/day for 28 days. Treatment was given for 1 month. Surgery was carried out after the treatment ended and preparations were made, then continued with measuring the diameter and the width of the lumen of aorta and coronary arteries. The thickness of the aortic and coronary arteries's walls. Data were analyzed using ANOVA at the 95% confidence level. The results showed that there was no significant difference ($P>0.05$) based on the results, exogenous insulin injection can not trigger atherosclerosis in white rats.

Keywords: exogenous insulin, insulin resistance, atherosclerosis, Rattus norvegicus L.

PENDAHULUAN

Kasus baru setiap tahun terdapat 500.000 dan 125.000 kasus yang meninggal akibat aterosklerosis. Hiperlipidemia telah menjadi faktor utama penyebab aterosklerosis ini. Prevalensi kasus aterosklerosis pada tahun 2008 tercatat sebesar 35,1 % kemudian pada tahun 2013 meningkat menjadi 35,9% (Wijaya, 2011). Diabetes melitus tipe 2 merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya gangguan metabolik, antara lain resistensi insulin. Hal ini dilatarbelakangi oleh paparan berlebih dari insulin yang dapat memicu hiperglikemia dan bahkan resistensi insulin. Hasil studi menunjukkan bahwa paparan berlebih insulin pada manusia dapat menyebabkan hiperglikemia. Paparan insulin berlebih juga dapat meningkatkan kadar ROS baik di hepatosit maupun di sel β pada pulau langerhans pankreas (Yang *et al.*, 2014). ROS berperan dalam mempercepat kerusakan sel endotel yang dibantu oleh inaktivasi dari *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) dan penurunan kadar dari *nitric oxide* (NO). ROS juga menginduksi pengekspresian dari molekul adhesi yang memfasilitasi sel inflamasi dalam merekrut dan mendeposisi lipid di lapisan intima. ROS berperan pada ingesti partikel LDL teroksidasi oleh makrofag dan monosit yang mengacu pada pelepasan berbagai sitokin inflamasi dan *growth factor*. Akhirnya, terjadilah proliferasi pada sel otot polos pada pembuluh darah, sebagai kunci terjadinya pembentukan aterosklerosis interseluler (Kaneto *et al.*, 2010).

Aterosklerosis didefinisikan sebagai penebalan lapisan intima arteri dan penimbunan lemak. Aterosklerosis terdiri dari dua bagian; ateros (penumpukan lemak disertai beberapa makrofag) dan sklerosis (lapisan fibrosis) yang terdiri dari sel otot polos, leukosit, dan jaringan ikat. Aterosklerosis dimulai dengan pengendapan partikel kecil kolesterol di intima dan otot polos yang mendasarinya. Plak tumbuh bersamaan dengan proliferasi jaringan fibrosa dan otot polos yang berada disekitarnya serta adanya tonjolan di dalam arteri dan berakibat pada berkurangnya aliran darah (Kopaei *et al.*, 2014). Penelitian ini menggunakan induksi insulin eksogen untuk mendapatkan hewan model diabetes akibat resistensi insulin dan bahkan mengarah ke aterosklerosis. Insulin yang digunakan adalah insulin glargine yang merupakan analog dari insulin basal sintetik dengan durasi kerja sekitar 18-26 jam dan

larut di pH rendah. Insulin glargine adalah insulin eksogen yang digunakan pada pasien DM. Insulin glargine mengendap membentuk heksamer pada pH fisiologis setelah injeksi ke dalam ruang subkutan kemudian glargine berdisosiasi menjadi monomer insulin yang diserap secara perlahan ke dalam sirkulasi (Joseph & Donner, 2015). Penggunaan insulin pada pasien penderita DM rentan menyebabkan terjadinya resistensi insulin yang bisa memperparah kondisi pasien. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis gambaran histologi aorta dan arteri koronaria pada hewan coba yang diinduksi insulin. Indikator penelitian yang diamati adalah diameter aorta dan arteri koronaria, diameter lumen aorta dan arteri koronaria, ketebalan dinding aorta dan arteri koronaria, dan lebar sel otot jantung.

METODE PENELITIAN

Penelitian sudah dilakukan selama 6 bulan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan dan di kandang hewan uji, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Pembuatan preparat histologi ren dilaksanakan di Balai Besar Veteriner Wates Yogyakarta. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro No.96/EC/H/FK-UNDIP/IX/2020.

Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) strain wistar. Kriteria tikus putih yang digunakan adalah berjenis kelamin jantan, berumur 2 bulan, bobot 175-200 g dan memiliki kondisi tubuh yang sehat. Tikus putih didapatkan dari peternakan yang terletak di Ngaliyan, Semarang, Jawa Tengah. Tikus putih diaklimasi di kandang individual dengan ukuran 30 x 30 x 40 cm selama 7 hari. Tikus putih diberi makan dengan pakan komplit butiran Hi-Pro-Vit A594K dan minum secara *ad libitum* selama aklimasi. Kandang dibersihkan dengan mengganti sekam selama 3 hari sekali. Tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 21 ekor. Tikus putih dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan 7 ulangan. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok P0 (Kelompok kontrol, tikus

putih tidak diinduksi insulin glargine), kelompok P1 (kelompok yang diinduksi dengan insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari setiap hari selama 14 hari), kelompok P2 (Kelompok yang diinduksi dengan insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari setiap hari selama 28 hari). Tikus putih diinduksi dengan insulin glargine secara subkutan.

Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi arteri koroner dibuat dengan metode parafin. Tikus dimasukkan ke dalam wadah tertutup berisi kapas yang sudah ditetesi dengan kloroform untuk tujuan dianestesi. Tikus yang sudah lemas, dibedah di atas meja parafin dan dilakukan isolasi organ. Arteri dan aorta diisolasi di daerah dekat jantung dengan panjang sekitar 1cm, kemudian dicuci dengan larutan garam fisiologis, dan difiksasi dengan larutan 10% *neutral buffered formalin*. Dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 96%. Tahap dealkoholisasi, dehidran dibersihkan dengan xilol. Organ dipindahkan ke dalam *base mold*, lalu diisi dengan parafin cair. Organ dalam blok yang telah dingin kemudian diiris setebal 5 μ m dengan mikrotom putar. Irisan diletakkan pada gelas objek yang diolesi *Mayer's egg albumin* dan akuades. Jaringan kemudian dilakukan deparafinasi menggunakan xilol untuk membersihkan jaringan dan kaca objek dari sisa parafin (Sari dkk., 2016). Preparat diberi pewarnaan hematoksilin-eosin, kemudian dilakukan mounting dengan meneteskan canada balsam lalu ditutup dengan gelas penutup (Harjati dkk., 2017).

Pewarnaan dengan Hematoksilin-Eosin (HE) dengan cara preparat dideparafinasi dengan xilol sampai bebas parafin, kemudian dimasukkan ke dalam alkohol 96%, 80%, 70%, 50%, 30%, kemudian dicuci dengan aquades, dan dimasukkan ke dalam larutan Hematoksilin 3-7 detik. Preparat selanjutnya dibilas dengan air mengalir selama 30 detik. Preparat dimasukkan ke dalam alkohol berturut-turut mulai dari alkohol 30%, kemudian 50%, 70%. Preparat kemudian dimasukkan ke dalam larutan Eosin selama 1-3 menit, lalu ke dalam alkohol 70%, 80%, 96%, 100% (alkohol absolut), selanjutnya dimasukkan ke dalam xilol. Preparat ditutup dengan gelas penutup setelah

ditetesi dengan canada balsam terlebih dahulu, kemudian diberi label (Mayangsari dkk., 2019).

Pengambilan Data

Pengamatan histomorfometri aorta dan arteri koronaria menggunakan *software Image Raster* pada *Optilab* yang dikalibrasi dalam mikrometer. Pengukuran dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Ketebalan dinding arteri koronaria diukur dari tunika intima hingga tunika media pada daerah yang paling tebal (Yuniwati & Djaelani, 2016). Menurut Perwitasari dkk., (2018), pengukuran diameter arteri koronaria dilakukan dibawah fotomikrograf dengan perbesaran 400x dengan cara mengukur diameter terpanjang dan terpendek kemudian ditambah dan dibagi dua.

Analisis Data

Data yang didapat diuji homogenitas dan normalitas menggunakan uji *Lavene* kemudian dianalisis dengan Anova pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) (Isdadiyanto, 2018). Analisis keseluruhan menggunakan software SPSS 24.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji Anova (Tabel 1) didapatkan bahwa diameter aorta, diameter lumen aorta, dan tebal dinding aorta tikus putih setelah diinduksi dengan insulin eksogen menunjukkan hasil berbeda tidak nyata dengan nilai $P > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan insulin glargine tidak memberikan pengaruh pada diameter aorta, diameter lumen aorta, dan tebal dinding aorta tikus putih. Perbedaan yang tidak nyata disebabkan oleh kadar glukosa darah tikus tiap perlakuan belum mencapai tahap diabetes melainkan masih prediabetes. Penelitian yang dilakukan oleh Saraswati *et al.*, (2021) menjelaskan bahwa kadar glukosa darah yang terukur dari tikus dengan pemberian insulin 1,80 IU/kgBB/hari dalam waktu 14 dan 28 hari masih dalam kondisi prediabetes. Kelompok kontrol memiliki kadar glukosa darah senilai $72,4 \pm 11,6$ mg/dL. Kelompok pemberian insulin 1,80 IU/kgBB/hari dalam waktu 14 hari senilai $82,63 \pm 15,55$ mg/dL. Kelompok pemberian

insulin 1,80 IU/kgBB/hari dalam waktu 28 hari senilai $117,33 \pm 8,8$ mg/dL, dan nilai ini berarti bahwa tikus masih dalam tahap prediabetes.

Hasil pengamatan histologi pada Gambar 1 kelompok P0 menunjukkan morfologi normal terlihat dari adanya batasan yang jelas antara tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia. Kriteria yang disebutkan sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Papodi *et al.*, (2014), bahwa kelompok kontrol memiliki lapisan aorta yang normal, yaitu terdiri dari tunika intima, media, dan adventisia. Tunika intima terdiri atas sel endotel selapis dan terdapat jaringan ikat subendotel dibawahnya. Pemisah antara tunika intima dan tunika media ialah membran elastis padat yang dikenal dengan lamina elastika interna. Tunika media tersusun oleh serabut-serabut elastis dan sel-sel otot polos. Kelompok kontrol tidak menunjukkan adanya sel busa pada tunika intima ataupun tunika media.

Hasil uji analisis Anova dari kelompok P1 (Tabel 1) menunjukkan berbeda tidak nyata dan hasil pengamatan histologi tidak menunjukkan adanya penebalan pada tiap tunika, tetapi terjadi pembentukan *fatty streaks*. Kondisi ini berarti pemberian injeksi insulin eksogen selama 14 hari

tidak dapat memicu terjadinya penebalan dinding dan menyebabkan penyempitan lumen aorta. Lintong (2009) menyatakan bahwa *fatty streak* terbentuk dari makrofag dan sel-sel otot polos. *Fatty streak* menjadi awal terbentuknya bercak ateroma yang tidak hanya dapat mempersempit pembuluh darah tetapi juga dapat membuat pembuluh darah mengeras karena penebalan pada tunika intima yang disebabkan oleh timbunan lemak.

Pemberian injeksi insulin eksogen dalam jangka waktu panjang dapat memicu terjadinya resistensi insulin. Resistensi insulin selanjutnya dapat menyebabkan aterosklerosis dengan memfasilitasi terjadinya hiperlipidemia, hipertensi, dan obesitas. Proses molekuler dari resistensi insulin menyebabkan terganggunya jalur *PI-3-kinase* (protein yang berperan dalam translokasi GLUT 4, yang menyebabkan penurunan dari produksi NO (Nitrogen monooksida), dan meningkatkan aktivasi jalur MAP kinase (enzim peptida yang merespon adanya faktor pertumbuhan) yang kemudian terjadilah proliferasi sel otot polos. Plak yang terbentuk pada lapisan intima diperparah oleh sel otot polos yang berproliferasi di pembuluh darah (Suhatri *dkk.*, 2014).

Tabel 1. Rerata tebal diameter, diameter lumen, dan ketebalan dinding aorta tikus putih setelah diinduksi dengan insulin eksogen.

Variabel (μm)	P0 $\bar{X} \pm \text{SD}$	P1 $\bar{X} \pm \text{SD}$	P2 $\bar{X} \pm \text{SD}$
Diameter aorta	1125.63 ± 188.80	1096.57 ± 168.376	1103.18 ± 195.787
Diameter lumen aorta	841.10 ± 103.54	873.34 ± 103.97	854.60 ± 70.54
Tebal dinding aorta	284.52 ± 135.71	223.23 ± 71.64	252.11 ± 137.99

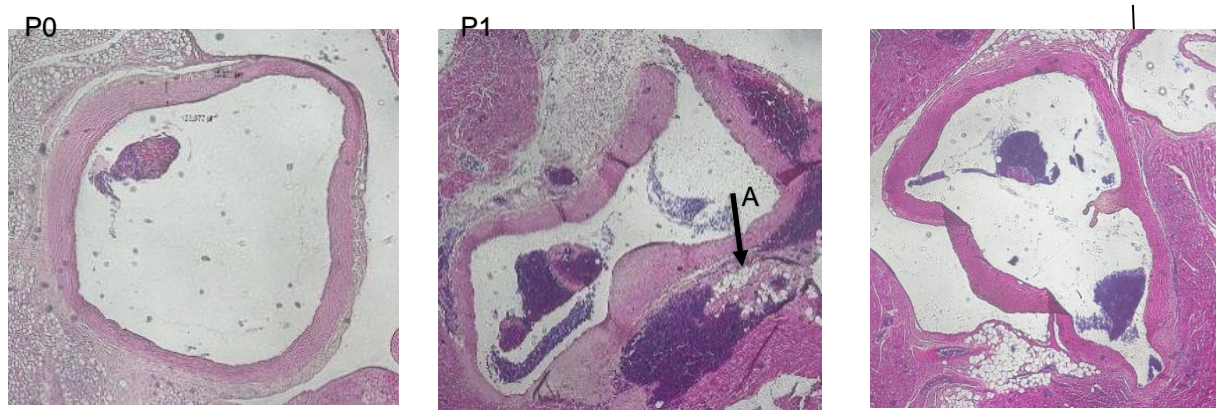
Keterangan: Data yang ditampilkan berupa rata-rata dan standar deviasi. Hasil uji Anova menunjukkan berbeda tidak nyata pada taraf kepercayaan 95% ($P > 0,05$). P0: kontrol tidak diinduksi insulin glargine, P1: Perlakuan induksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 hari, P2: Perlakuan induksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 28 hari.

Hasil yang terlihat pada Gambar 1 dari kelompok P2 menunjukkan berbeda tidak nyata dimana tidak terlihat adanya penebalan pada tunika intima, tetapi bisa terlihat adanya pembentukan sel-sel busa. Kondisi ini memiliki arti bahwa pemberian perlakuan insulin 1,80 IU/200gBB/hari belum menyebabkan tikus diabetes melainkan masih pada tahap prediabetes sehingga tidak dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin yang

mengarah kepada aterosklerosis. Hal ini sejalan dengan yang dijelaskan pada penelitian Saraswati *et al.* (2021), bahwa tikus dalam kondisi prediabetes merupakan tikus dengan kadar glukosa lebih rendah dari diabetes tetapi lebih tinggi dari normal. Kondisi prediabetes glikemik biasanya terjadi setelah resistensi insulin. Penelitian Adipungu *et al.*, (2016) juga menjelaskan bahwa kondisi hiperglikemia pada tikus dapat menginduksi perkembangan sel

busa. Hiperglikemia akan mendorong produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan dapat mengganggu fungsi vasodilator endotelium. ROS berperan dalam kerusakan sel endotel yang dibantu oleh inaktivasi dari endothelial nitric oksida sintase (*eNOS*) dan penurunan jumlah *nitric oxide* (NO). ROS juga

menginduksi pengekspresian dari molekul adhesi, yang memfasilitasi sel inflamasi dan deposisi lipid di lapisan intima. ROS juga berperan pada ingesti partikel LDL teroksidasi oleh makrofag dan monosit yang mengacu pada pelepasan berbagai sitokin inflamasi dan *growth factor* (Kaneto *et al.*, 2010).



Gambar 1. Histologi aorta dari tiga kelompok perlakuan (P0, P1, P2) dengan pewarnaan HE; Perbesaran 400X. Keterangan: (A) lesi akibat sel nekrosis.

Tabel 2. Rerata tebal diameter, diameter lumen, ketebalan dinding arteri koronaria, dan lebar sel otot jantung tikus putih setelah diinduksi dengan insulin eksogen.

Variabel (μm)	P0 ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	P1 ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	P2 ($\bar{X} \pm \text{SD}$)
Diameter arteri	99.23 \pm 19.47	113.31 \pm 8.96	121.71 \pm 7.03
Diameter lumen arteri	54.17 \pm 2.10	53.75 \pm 4.83	61.01 \pm 15.48
Tebal dinding arteri	45,06 \pm 28.46	59.56 \pm 11.11	46.56 \pm 4.85
Lebar Sel Otot Jantung	9.97 \pm 1.04	9.50 \pm 0.41	10.96 \pm 0.74

Keterangan: Data yang ditampilkan berupa rata-rata dan standar deviasi. Hasil uji Anova menunjukkan berbeda tidak nyata pada taraf kepercayaan 95% ($P > 0,05$). P0: kontrol tidak diinduksi insulin glargine, P1: Perlakuan induksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 hari, P2: Perlakuan induksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 28 hari.

Hasil uji Anova (Tabel 2) menunjukkan injeksi insulin eksogen dengan dosis 1,80 IU/200gBB/hari berbeda tidak nyata dengan nilai $P > 0,05$. Kondisi ini dikarenakan injeksi insulin dengan kadar 1,80 IU/200gBB/hari dengan lama waktu 14 dan 28 hari tidak menyebabkan penebalan pada arteri koronaria. Pemberian perlakuan tidak menyebabkan tikus diabetes melainkan masih di tahap prediabetes. Kondisi tersebut sejalan dengan penelitian oleh Manohara *et al.*, (2015), bahwa penebalan tunika intima dan media dipengaruhi oleh lama waktu pemberian perlakuan stress fisik.

Hasil pengamatan histologis yang terlihat pada Gambar 2 kelompok P0 menunjukkan kondisi normal dimana terlihat batasan antar tunika yang jelas. Hal ini sesuai dengan Sobenin *et al.*, (2017) bahwa pada tikus kelompok kontrol, tunika media dari arteri koronaria jaringan ikat dan jumlah sel yang relatif normal dibandingkan dengan hewan yang mengalami diabetes.

Hasil pengamatan histologi yang terlihat pada Gambar 2 kelompok P1 tidak menunjukkan adanya peningkatan ketebalan dari tunika media tetapi bisa terlihat adanya bercak ateroma. Tikus

masih dalam tahap prediabetes dengan level glukosa darah lebih tinggi dari normalnya tetapi belum mencapai diabetes. Pemberian perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata kepada ketebalan sel arteri koronaria. Kondisi ini sesuai dengan yang dijelaskan oleh Bornfeldt & Tabas (2011), bahwa peningkatan kadar glukosa darah kemungkinan besar dimediasi oleh peningkatan ekspresi molekul adhesi P-selectin (protein trans membran tipe 1), VCAM-1 (protein adhesi sel vaskular tipe1), dan ICAM-1 (reseptor interselular adhesi molekul 1) melalui jalur yang dimediasi oleh protein kinase c dan peningkatan stres oksidatif. Hiperglikemia meningkatkan adhesi leukosit ke sel endotel sebagai langkah awal dalam aterogenesis kemungkinan melalui efek langsung glukosa pada sel endotel. Sejalan dengan yang dipaparkan oleh Hu *et al.* (2019), bahwa pembentukan bercak ateroma menjadi manifestasi klinis dari hiperglikemia dengan kemungkinan yang reversibel. Tahapan selanjutnya ialah akan berkembang menjadi plak yang mengandung makrofag dan sel otot polos. pertumbuhan sel busa dan tidak terjadi peningkatan ketebalan dari tunika media, yang berarti pemberian perlakuan tidak memberikan pengaruh kepada sel arteri koronaria.

Hasil yang terlihat pada Gambar 2 dari kelompok P2 menunjukkan tidak adanya penebalan pada dinding serta tidak terjadi penyempitan lumen arteri koronaria, tetapi terlihat adanya bercak ateroma di sepanjang dinding pembuluh darah. Tikus masih dalam kondisi prediabetes dimana kadar glukosa darah lebih tinggi dari kadar normal tetapi lebih rendah dari kadar diabetes. Penelitian yang dilakukan oleh Adipungu *et al.*, (2016) juga menjelaskan bahwa kondisi hiperglikemia terjadi setelah resistensi insulin dan dapat menginduksi percepatan perkembangan sel busa.

Resistensi insulin terjadi saat sel tidak mampu untuk menghasilkan reseptor insulin yang dapat berikatan dengan protein transporter pada lipid bilayer sel target. Hal ini dapat menghambat kerja insulin dalam pemindahan glukosa dan ambilan glukosa pada sel target menurun, terjadi pengurangan glikolisis dan oksidasi asam lemak di hati, serta gagal untuk menekan glukoneogenesis hepatic. Konsekuensi dari glukoneogenesis adalah pembentukan limbah metabolit yang jika masuk ke

dalam darah akan memicu terbentuknya radikal bebas, seperti lipid peroksida, NO, dan angion superoksida (Kumar *et al.*, 2015). Hasil penelitian Ormazabal *et al.*, (2018) menjelaskan bahwa pemberian injeksi insulin eksogen dalam jangka panjang dapat menyebabkan konsekuensi yang serius, seperti peningkatan kadar glukosa darah, tingginya glukosa darah, serta hyperinsulinemia. Kondisi hyperinsulinemia yang parah dapat menginduksi terjadinya disfungsi endotel, inflamasi, serta resistensi insulin. Gangguan pensinyalan endotel berkontribusi terhadap inflamasi dan menjadi korelasi penting antara resistensi insulin dan fungsi endotel serta dapat mengganggu keseimbangan antara vasodilator endotel dan mekanisme vasokonstriktor dan meningkatkan risiko kardiovaskuler.

Ketersediaan NO menjadi penanda kesehatan pembuluh darah. Peran NO sebagai vasodilator mengaktifkan *guanylyl cyclase* di otot polos pembuluh darah, NO juga berperan dalam perlindungan pembuluh darah dari cedera aterosklerosis. NO menjadi molekul sinyal pencegah interaksi trombosit dan leukosit dengan dinding pembuluh darah hasilnya proliferasi dan migrasi sel otot polos pada pembuluh darah terhambat (Creager & Lüscher, 2003). Plak aterosklerosis yang terbentuk di lapisan intima dinding pembuluh darah dapat memburuk dikarenakan oleh proliferasi sel otot polos (Suhatri *dkk.*, 2014).

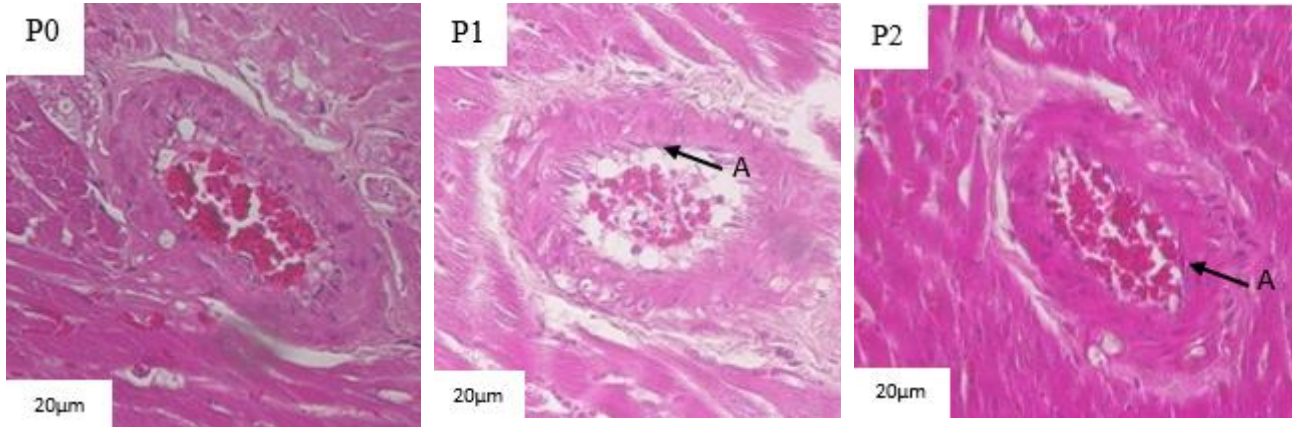
Gambaran penampang melintang preparat histologis sel otot jantung tikus putih (Gambar 3) pada kelompok P0 menunjukkan kondisi sel yang normal, tidak terlihat adanya kerusakan dan inti sel berada di tengah. Hal ini dikarenakan kelompok P0 merupakan kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan injeksi insulin eksogen.

Hasil yang terlihat antara kelompok P0, P1 dan P2 adalah tidak adanya penebalan yang terjadi pada serabut otot jantung. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan tidak memberikan pengaruh terhadap sel otot jantung. Jantung orang dewasa dapat menggunakan berbagai substrat untuk menghasilkan ATP, tetapi dalam kondisi hiperglikemia dan resistensi insulin, jantung kehilangan kemampuan ini. Asam lemak bebas (FFA) dianggap sebagai substrat energi kompatibel

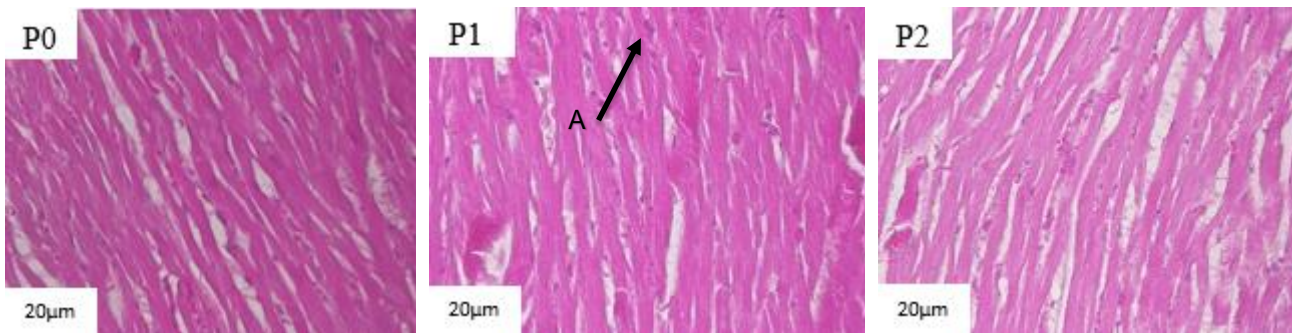
bagi jantung walaupun terdapat pilihan substrat lain, seperti glukosa dan laktat. Pada kondisi hiperglikemia akibat resistensi insulin, terjadi peningkatan pelepasan FFA dari jaringan adiposa dan translokasi transporter FFA ke sarcolemma yang dapat menyebabkan internalisasi substrat dalam kardiomyosit (Borghetti *et al.*, 2018).

Hiperglikemia merupakan konsekuensi dari resistensi insulin. Akumulasi asam lemak bebas

dapat menyebabkan terjadinya lipotoksitas dan menyebabkan penurunan sekresi insulin oleh sel β pankreas (Tien *et al.*, 2019). Dampak lain yang ditimbulkan dari akumulasi lemak pada sel juga dapat menyebabkan kerusakan sel seperti infiltrasi lemak. Infiltrasi lemak merupakan kondisi lemak menembus membran sel sehingga menyebabkan adanya akumulasi sel-sel lemak di sel otot jantung (Anindya & Windarti, 2014).



Gambar 2. Histologi arteri koronari dari tiga kelompok (P0, P1, dan P2 dengan perlakuan (Pewarnaan HE; Perbesaran 400X).
Keterangan: Garis panah hitam: sel busa.



Gambar 3. Histologi sel otot jantung dari tiga kelompok perlakuan (P0, P1, dan P2) (Pewarnaan HE; Perbesaran 400X).
Keterangan: (A) Infiltrasi lemak.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian injeksi insulin 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 dan 28 hari tidak berpotensi menyebabkan aterosklerosis pada tikus putih.

DAFTAR PUSTAKA

Adipungu, D. D., S. E. Heinonen, A. A. Christine, M. Brusberg, A. Ahnmark, M. Behrendt, B. Leighton, & A. Cahtrine. 2016. Hyperglycemia Induced by Glucokinase Deficiency Accelerates Atherosclerosis Development and Impairs Lesion Regression in Combined Heterozygous Glucokinase and the Apolipoprotein E-Knockout Mice. *Journal of Diabetes Research*, 16: 11.

- Borghetti, G., D. V. Lewinski, D. M. Eaton, H. Sourij, S. R. Houser & M. Wallner. 2018. Diabetic Cardiomyopathy: Current and Future Therapies. *Beyond Glycemic Control. Frontiers in Physiology*, 9(1514): 1–15.
- Bornfeldt, K. E., & I. Tabas. 2011. Insulin Resistance, Hyperglycemia, and Atherosclerosis. *Cell Metabolism Review*, 14(5): 575–585.
- Creager, M. A., & T. F. Lüscher. 2003. Diabetes and Vascular Disease Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I. Review: *Clinical Cardiology*.
- Harijati, N., S. Samino, S. Indriyani, & A. Soewondo. 2017. *Mikroteknik Dasar*. Universitas Brawijaya Press: Malang.
- Isdadiyanto, S. 2015. Efek Chitosan pada Histopatologis Aorta Tikus Putih yang Diberi Pakan Lemak Tinggi. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 23(1): 57 – 68.
- Isdadiyanto, S. 2018. Tebal Dinding dan Diameter Lumen Arteria Koronaria Tikus Putih setelah Pemberian Teh Kombucha Kadar 100% Waktu Fermentasi 6, 9 dan 12 Hari. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 3(1): 97–104.
- Joseph, J. J., & T. W. Donner. 2015. Long-Term Insulin Glargine Therapy in Type 2 Diabetes Mellitus: A Focus On Cardiovascular Outcomes. *Vascular Health Risk Management*, 28(11): 107–116.
- Kaneto, H., N. Katakami, M. Matsuhisa, & T. A. Matsuoka. 2010. Role of Reactive Oxygen Species in The Progression of Type 2 Diabetes and Atherosclerosis. *Articles from Mediators of Inflammation: Hindawi Publishing Corporation*.
- Kopaei, M. R., S. Mahbubeh, D. Monir, A. Baradaran, & H. Nasri. 2014. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes. *International Journal of Preventive Medicine*, 5(8): 927–946.
- Kumar, V., A. K. Abbas, & J. C. Aster. 2015. *Pathologic Basis of Disease (9th ed)*. Elsevier Saunders: Philadelphia.
- Lintong, P. M. 2009. Perkembangan Konsep Patogenesis Aterosklerosis. *Jurnal Biomedik*, 1(1): 12–22.
- Manohara, G. D. I., R. Normasari, & Z. Febianti. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Tauge Kacang Hijau (*Vigna radiata L.*) terhadap Ketebalan Tunika Intima-Media Aorta Abdominalis pada Tikus Wistar Jantan yang diberi Stres Fisik. *eJurnal Pustaka Kesehatan*, 3(3): 381–385.
- Meidayanti, D. 2021. Manfaat Likopen Dalam Tomat Sebagai Pencegahan Terhadap Timbulnya Aterosklerosis. *Jurnal Medika Hutama*, 2(3): 906–910.
- Ormazabal, V., S. Nair, O. Elfeky, C. Aguayo, C. Solomon, & F. A. Zuniga. 2018. Association Between Insulin Resistance and the Development of Cardiovascular Disease. *Cardiovascular Diabetol*, 17(122): 1–14.
- Papodi, N. N. 2014. Pengaruh Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot L.*) terhadap Gambaran Histopatologi Aorta Tikus Wistar dengan Diet Aterogenik. *Jurnal E-Biomedik*, 2(1): 1–12.
- Perwitasari, W., A. J. Sitaswi, & S. M. Mardiaty. 2018. Hepatosomatic Index (Hsi) dan Diameter Hepatosit Mencit (*Mus musculus L.*) setelah Paparan Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica papaya L.*). *Jurnal Akademika Biologi*, 7(1): 8–17.
- Saraswati, T. R., I. G. A. A. Suartini, & S. Tana. 2021. Development of Diabetic Animal Model via Insulin Glargine Induction. *Asian Journal of Animal Science*, 15(2): 67–74.
- Sobenin, I. A., V. A. Orekha, A. V. Grechko, & N. O. Alexander. 2017. Is Insulin Pro-Atherogenic At The Cellular Level?. *Vessel Plus*, 1: 174–181.
- Suhatri, H. A., & R. Zet. 2014. Pengaruh Ekstrak Wortel (*Daucus carota L.*) terhadap Aterosklerosis Pada Burung Puyuh Jantan (*Cortunic-cortunix japonica*). *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2): 183–193.
- Wijaya, A. 2011. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Penurunan Jumlah Foam Cell Pada Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Aterogenik. *Jurnal Universitas Brawijaya*, 2(1): 1–10.
- Yang, X., S. Mei, H. Gu, H. Guo, L. Zha, J. Cai, X. Li, Z. Liu, & W. Cao. 2014. Exposure to Excess Insulin (Glargine) Induces Type 2 Diabetes Mellitus in Mice Fed on a Chow Diet. *The Journal of Endocrinology*, 221(3): 469–480.
- Yuniwanti, E. Y. W., & M. A. Djaelani. 2016. Respon Histomorfometrik Aorta Tikus Putih terhadap Pemberian Berbagai Kadar Vco dan Olive Oil. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 1(1): 54–58.