

## Hubungan Kadar Insulin Pankreas dan Kadar Glukosa Darah pada Model Tikus Wistar Jantan setelah Diinduksi Bisphenol-A

*(The Relation of Insulin Pancreas Levels and Blood Glucose Levels to Wistar Rat Models After Bisphenol-A Induction)*

Mala Hayati<sup>1</sup>, Zahreni Hamzah<sup>2\*</sup>, Ari Tri Wanodyo H<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

<sup>2</sup> Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

<sup>3</sup> Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengetahui hubungan antara kadar insulin pankreas dan kadar glukosa darah tikus wistar jantan model setelah induksi Bisphenol-A. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak kelompok kontrol pretes-postes. Sampel terdiri dari 12 ekor tikus yang dibagi menjadi 2 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Pada kelompok perlakuan, bisphenol-a diberikan peroral dengan dosis 20mg / kg selama 28 hari. Kadar insulin pankreas akan diperiksa dengan ELISA dan pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan glukometer sebelum prosedur pemenggalan kepala. Data dianalisis dengan uji korelasi pearson untuk kadar glukosa darah dan kadar insulin pankreas ( $p < 0,05$ ). Hasil penelitian menunjukkan  $r$  hitung (0,802), sig. 2 tailed (0,002) yang berarti ada hubungan yang kuat dan positif antara kadar insulin pankreas dengan kadar glukosa darah. Semakin tinggi kadar insulin pankreas maka kadar glukosa darah juga akan semakin meningkat. Ada hubungan yang kuat dan positif antara kadar insulin pankreas dengan kadar glukosa darah, yaitu bila kadar insulin pankreas meningkat maka kadar glukosa darah juga akan meningkat pada tikus yang diinduksi BPA dengan dosis 20 mg / kg / hari sebesar 28 hari.

**Kata kunci:** BPA, Glukosa, Insulin

### Abstract

*This study was to determine the relation between pancreas insulin levels and blood glucose levels in male wistar rat models after Bisphenol-A induction. This research was a laboratory experimental study with a randomized separate pretest-post test control group design. The samples consist of 12 rats that divided into 2 groups. Each group consist 6 rats. In the treatment group, bisphenol-a is given peroral at a dose of 20mg/ kg for 28 days. Pancreas insulin levels will be examined by ELISA and blood glucose levels measurement done by glucometer before decapitation procedure. The data were analyzed by Pearson correlation test for blood glucose levels and pancreas insulin levels ( $p < 0.05$ ). The results showed  $r$  count (0.802), sig. 2 tailed (0.002), which mean there is a strong correlation and a positive relation between pancreas insulin levels and blood glucose levels. The higher the pancreas insulin levels, the blood glucose levels will also increase. There was a strong correlation and a positive relation between pancreas insulin levels and blood glucose levels, which is when pancreas insulin levels elevated, blood glucose levels will also be increased in BPA-induced rat with dose of 20 mg / kg / day for 28 days.*

**Keywords:** BPA, Glucose, Insulin

**Korespondensi (correspondence)** : Zahreni Hamzah. Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember. Jln. Kalimantan No.37, Kampus Tegalboto, Jember 68121. Email. zahreni.hamzah@gmail.com

Indonesia menempati urutan ke-dua setelah China sebagai negara penghasil sampah terbesar di dunia. Jumlah penduduk Indonesia sebanyak 259 juta jiwa dan dapat menghasilkan sampah mencapai 187 juta ton pertahun.<sup>1</sup> Jumlah sampah yang dihasilkan akan terus meningkat tiap tahunnya sesuai dengan bertambahnya penduduk Indonesia. Komposisi sampah di Indonesia menunjukkan kandungan plastik sebanyak 29%.<sup>2</sup> Data tersebut menunjukkan bahwa masyarakat Indonesia masih banyak menggunakan plastik dalam kehidupan sehari-hari.

Salah satu bahan kimia yang digunakan sebagai monomer dalam produksi plastik polikarbonat (PC) dan resin epoksi yakni Bisphenol-A (BPA). BPA banyak ditemukan di kehidupan sehari-hari, seperti pada botol susu bayi, peralatan makan, botol air, pipa air, termasuk pada kedokteran gigi dapat ditemukan pada akrilik, komposit dan lainnya. BPA dapat berpindah dari kemasan

berbahan polikarbonat ke makanan atau minuman dengan dipengaruhi oleh lamanya waktu kontak, temperatur mulai 20°C dan pH makanan atau minuman yang basa atau lebih dari 7.<sup>3</sup>

Bisphenol-A juga merupakan salah satu bentuk *Endocrine Disrupting Chemical* (EDCs) yang memiliki dampak yang berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan tubuh karena bersifat sebagai pengganggu fungsi endokrin.<sup>4</sup> BPA memiliki sifat menyerupai hormon estrogen sehingga dapat secara langsung berinteraksi dengan estrogen reseptor.<sup>5</sup> BPA juga dapat menyebabkan kemungkinan lebih tinggi menderita penyakit jantung koroner, diabetes, gangguan kekebalan tubuh dan ketidaknormalan enzim pada hati.<sup>6</sup> BPA memiliki sifat estrogenik, sehingga diduga dapat secara langsung mempengaruhi peningkatan kadar insulin pankreas yang nantinya juga akan

pada kadar glukosa darah.

Insulin sangat dibutuhkan dalam metabolisme tubuh karena insulin memiliki efek pada hati terutama pada glikogenesis, menghambat ketogenesis dan glukoneogenesis. Insulin juga memiliki efek pada otot dan lemak yakni membantu sintesis protein dan glikogen serta penyimpanan trigliserida. Fungsi utama insulin yakni menurunkan konsentrasi glukosa darah.<sup>7</sup>

Glukosa merupakan sumber energi utama dalam tubuh. Glukosa juga memiliki fungsi sebagai bahan bakar utama otak dan sel darah merah. Glukosa juga merupakan prekursor untuk sintesis semua karbohidrat dalam tubuh.<sup>8</sup> Insulin dan glukosa memiliki peran yang sangat penting bagi tubuh. Jumlah kadar insulin dan glukosa juga sangat berpengaruh terhadap metabolisme serta kesehatan tubuh.

Penelitian tentang dampak BPA terhadap kesehatan masih terus dikembangkan sampai saat ini. Seperti penelitian yang dilakukan Priyadarshini, *et al.* (2014) menunjukkan adanya hubungan positif antara tingkat BPA urin dan penyakit metabolik diabetes. Pada penelitian Jensen *et al.*, 2016 meneliti tentang hubungan BPA terhadap DMT2 yang ditinjau dari toleransi glukosa.

Penelitian yang mempelajari hubungan kadar insulin pankreas dan kadar glukosa darah setelah diinduksi BPA masih belum jelas mengenai mekanismenya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar insulin pankreas dan kadar glukosa darah pada model tikus wistar jantan setelah diinduksi BPA dengan menggunakan dosis 20 mg/kg/BB.<sup>9</sup>

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan nomor *ethical clearance* No.309/UN25.8/KEPK/DL/2019. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized separate posttest control group design*.<sup>10</sup> Pada penelitian ini akan menggunakan tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan, berusia 90-120 hari, dengan berat 200-250 gram.

Sampel penelitian dibagi menjadi 2 kelompok ditentukan menggunakan Rumus Frederer dan jumlah total sampel yang digunakan adalah 12 ekor. Dua kelompok sampel terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok Kontrol: hewan coba tidak diberi Bisphenol A tetapi diberi sondase aquadest sebanyak 3 ml dan akan dibedah pada hari ke-29. Kelompok Perlakuan: Kelompok yang diberi sondase Bisphenol A selama 28 hari dan dibedah pada hari ke-29.

Tikus terlebih dahulu ditimbang berat badannya selanjutnya diaklimatisasi selama 7 hari. Pembuatan sediaan BPA dengan dilarutkan menggunakan minyak jagung

sesuai dengan perhitungan. Dosis yang digunakan dihitung sesuai dengan berat badan tikus pada hari terakhir aklimatisasi. Menurut hasil penelitian Jay (Indumathi D *et al.*, 2013) dosis yang digunakan yakni 20 mg/kg/hari. BPA disondasekan satu kali sehari pada pukul 09.00 selama 28 hari. Setelah diberi perlakuan selama 28 hari, tikus terlebih dahulu dipuasakan selama 12 jam, selanjutnya dilakukan pengukuran glukosa darah dan dilakukan dekapitasi dengan dibius menggunakan chloroform secara inhalasi.

Pembedahan dilakukan pada daerah *abdomen* tikus, kemudian memotong jaringan pankreas lalu dibilas dengan PBS pH 7,4 kemudian ditempatkan pada tube. Selanjutnya menggerus organ diatas dry ice dan memberi PBS pH 7,4 sebanyak 10% dari berat pankreas dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan dipindahkan ke eppendorf kosong dan simpan pada suhu -20°C sampai dilakukan uji ELISA. Prosedur pengukuran kadar insulin dilakukan menggunakan *ELISA Kit* sesuai dengan aturan pabrik.

## HASIL PENELITIAN

**Tabel 1.** Kadar Glukosa Darah dan Kadar Insulin Pankreas

Kelompok	Glukosa Darah (mg/dL)	Insulin Pankreas (mIU/L)
Kontrol	97,67 ± 4,32	1,30 ± 0,17
Perlakuan	122,67 ± 19,03	3,19 ± 0,27

Rata-rata kadar glukosa darah pada kelompok kontrol yakni sebesar 97,67 (mg/dL). Rata-rata kadar glukosa darah pada kelompok perlakuan lebih tinggi dari kelompok kontrol yakni sebesar 122,67 (mg/dL). Rata-rata kadar insulin pankreas pada kelompok kontrol yakni sebesar 1,30 (mIU/L). Pada kelompok perlakuan rata-rata kadar insulin pankreas lebih tinggi dari kelompok kontrol yakni sebesar 3,19 (mIU/L).

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji normalitas dan homogenitas. Hasil uji normalitas menggunakan *Saphiro wilk* untuk kadar glukosa darah kelompok kontrol ( $p=0,964$ ), kelompok perlakuan ( $p=0,011$ ) sedangkan kadar insulin pankreas kelompok kontrol ( $p=1$ ) dan kelompok perlakuan ( $p=0,838$ ). Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene test* didapatkan hasil kadar glukosa darah ( $p=0,122$ ) dan kadar insulin pankreas ( $p=0,153$ ) menunjukkan data homogen. Selanjutnya dilakukan uji korelasi *pearson* hasil yang didapat  $r$  hitung (0,802), sig. 2 tailed (0,002), hal ini menunjukkan terdapat korelasi yang kuat dan hubungan yang positif antara kadar insulin pankreas dan kadar glukosa darah yakni, semakin meningkat kadar insulin pankreas maka kadar glukosa darah juga akan meningkat.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan terdapat peningkatan kadar insulin pankreas tikus yang telah diinduksi BPA dengan dosis 20 mg/kg/hari selama 28 hari (Tabel 1). Rata-rata kadar insulin pankreas pada kelompok perlakuan lebih tinggi dari kelompok kontrol. Peningkatan tersebut disebabkan akibat efek induksi BPA yang telah diberikan selama 28 hari. BPA merupakan salah satu dari EDC (*Endocrine Disrupting Chemicals*) yang menunjukkan sifat estrogenik dan memiliki efek yang sama dengan hormon 17 $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>), sehingga dapat secara spesifik mengikat dan mengaktifasi reseptor estrogen.<sup>11</sup> E<sub>2</sub> memiliki dua isoform yakni ER $\alpha$  dan ER $\beta$  yang terdapat pada sel  $\beta$  pankreas. Aktivasi pada ER $\alpha$  akan menyebabkan proliferasi sel  $\beta$  pankreas dan aktivasi ER $\beta$  akan meningkatkan sekresi insulin.<sup>12</sup>

Kedua isoform E<sub>2</sub> yakni ER $\alpha$  dan ER $\beta$  juga memiliki fungsi dalam pengaturan transport glukosa dan insulin melalui GLUT4 (*Glucose transporter type 4*). ER $\alpha$  dan ER $\beta$  memiliki fungsi yang berbeda pada ekspresi GLUT4. Aktivasi ER $\alpha$  akan membantu ikatan IR dan menstimulasi ekspresi GLUT4, hal ini menyebabkan peningkatan ekspresi GLUT4, sehingga penggunaan glukosa oleh jaringan akan semakin baik. Aktivasi ER $\beta$  akan menyebabkan hal yang sebaliknya terjadi yakni ekspresi GLUT4 akan tertekan.<sup>13</sup>

Bisphenol-A akan berinteraksi dengan salah satu dari kedua isoform tersebut yakni ER $\alpha$  dan ER $\beta$ . BPA akan berikatan 3 kali lebih kuat dengan ER $\beta$  dibandingkan dengan ER $\alpha$ . BPA yang masuk ke dalam sel, dalam hal ini berperan sebagai E<sub>2</sub> akan berikatan dengan ER $\beta$ . Ikatan tersebut akan menekan ekspresi GLUT4 sehingga insulin tidak dapat digunakan oleh jaringan.<sup>13</sup> Produksi insulin yang berlebihan nantinya dapat menyebabkan gangguan pada sel beta pankreas akibat stress oksidatif pada retikulum endoplasma dan dapat memicu apoptosis pada sel beta pankreas.<sup>14</sup>

Hormon-hormon yang dapat meningkatkan sekresi insulin atau dapat memperkuat rangsangan glukosa terhadap sekresi insulin yakni glukagon, hormon pertumbuhan, kortisol, progesterone dan estrogen. Jika terdapat rangsangan dari salah satu jenis hormon tersebut dalam jumlah yang besar maka dapat mengakibatkan sel  $\beta$  pankreas berlebihan dalam memproduksi insulin dan akan meningkatkan resiko terkena diabetes.<sup>15</sup>

Rata-rata kadar glukosa darah pada kelompok perlakuan juga lebih tinggi dari kelompok kontrol. Hal tersebut diduga karena adanya aktivasi ER $\beta$  oleh BPA yang akan mengakibatkan ekspresi GLUT4 mengalami penurunan sehingga insulin akan sulit masuk ke dalam sel dan glukosa juga tidak dapat digunakan dengan maksimal. Glukosa yang tidak dapat digunakan serta diubah menjadi

ATP, akan menumpuk di pembuluh darah dan disebut dengan hiperglikemia.<sup>13</sup>

Peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok perlakuan juga diduga karena kadar insulin pankreas yang tinggi pada kelompok perlakuan akan menyebabkan reseptor insulin berupaya melakukan pengaturan sendiri dengan menurunkan jumlah reseptor. Hal tersebut mengakibatkan menurunnya respon reseptor insulin dan terjadi resistensi insulin. Pada keadaan resistensi insulin, dapat terjadi peningkatan produksi glukosa dan penurunan penggunaan glukosa sehingga mengakibatkan penumpukan glukosa dalam darah atau hiperglikemia.<sup>16</sup>

Induksi BPA dengan dosis 20mg/kgBB selama 28 hari dapat meningkatkan kadar insulin pankreas. Peningkatan tersebut karena BPA menstimulasi estrogen reseptor, sehingga produksi insulin pankreas meningkat serta terjadi penumpukan glukosa dalam darah yang diakibatkan karena glukosa darah tidak dapat digunakan dengan maksimal.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang kuat serta positif antara kadar insulin pankreas dan kadar glukosa darah yakni, semakin meningkatnya kadar insulin pankreas maka kadar glukosa darah juga akan meningkat pada tikus yang telah diinduksi BPA dengan dosis 20 mg/kg/hari selama 28 hari.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Jenna R. Jambeck, G Roland, W Chris, R Theodore, Siegler, P Miriam, A Anthony, N Ramani, L Kara. Plastic waste inputs from land into the ocean, *Science*, 2015; 347 Issue 6223.
2. Acharya A, S Buana Sari, A Woerasinghrijas, A Ristanti, I Najib, Wanty. Laporan Sintesis. Hotspot Sampah Laut Indonesia. *Public Disclosure Authorized*. 2018.
3. Hoekstra EJ, Simoneau. Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2013; 53(4):386-402
4. Perdana, W Yudha, D.J Jacobus. Bisphenol A(BPA) adalah Endocrine Disrupture Chemicals (EDC) yang Berperan sebagai Agen Diabetogenik. *CDK-244/ 2016; 43(9)*.
5. Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Bisphenol-A and the great divide: A Review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine Review*. 2009; 30(1):75-95.
6. Miller G, S Spoolman. *Living in the Environment: Principles, Connections and Solutions*. 2011: 456.

7. Haviz M. Insulin Shock dan Hubungannya dengan Metablisme Tubuh. *Jurnal Sainstek*. 2012; 4(2):185-191.
8. Joyce, LeFever. Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik Ed 6. Jakarta : EGC. 2013.
9. Indumathi D, S Jayashree, J Selvaraj, S Sathish, C Mayilvanan, N Akilavalli and KBalasubramanian. 2013.
10. Zahreni H. 2015. Peningkatan Jumlah Sel Punca Mesenkimal Ligamen Periodontal Penghasil HSP-60 dan TGF-beta Berperan pada Mobilitas Gigi Tikus SD yang Mengalami Distres Kerja Kronis. Universitas Airlangga
11. Shanle, E.K. dan W. Xu. Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling: Identification and mechanisms of action. *Chem. Res. Toxicol*, 2011; 24: 6–19.
12. Nadal A, A Magdalena, S Soriano, C Ripoll, E Fuentes, I Quesada, AB Ropero. Role of estrogen receptors alpha, beta and GPER1/GPR30 in pancreatic beta-cell. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2011; 16:251-60.
13. Matsushima A, X Liu, H Okada, M Shimohigashi, Y Shimohigashi. Bisphenol AF is a full agonist for the estrogen receptor ERalpha but a highly specific antagonist for ERbeta. *Environ Health Perspect*. 2010; 118(9):1267–72.
14. Makaji E, S Raha, M.G Wade, A.C Holloway.. Effect of environmental contaminants on Beta cell function. *Int J Toxicol*. 2011; 30(4): 410-8.
15. Guyton, Arthur C. dan J.E. Hall. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 14. Jakarta : EGC. 2015
16. Lemone, Priscilla, Karen M, Burke, Gerene Bauldoff. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta:EGC. 2015.