

Hiperglikemia Tidak Menyebabkan Perubahan Bobot Badan dan Jumlah Neuron Mienterik Nitregik Usus Halus Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Hyperglycemia does not affect to the body weight and the number of nitregic neurons of small intestines in Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*).

**Amelia Hana*, Pudji Astuti, Yuda Heru Fibrianto, Sarmin,
Claude Mona Airin, M. Tauhid Nursalim**

Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.
Jl Fauna No.2, Karangmalang, Yogyakarta
*Email : hana_amy@ugm.ac.id

Naskah diterima : 29 Agustus 2018, direvisi : 27 November 2018, disetujui : 9 Desember 2018

Abstract

Digestive dysfunction is a common symptom of diabetes. Diabetes can lead to the loss of enteric neurons as well as nerve dysfunction and gastrointestinal complications. There has been no complete report of mienteric nitregic of small intestines on hyperglycaemia condition, so the purpose of this study was to assess changes of nitregic neural profile of small intestines on hyperglycemic Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*). Twelve rats were adapted for 3 days, then they were randomly divided into 3 groups namely group I (K-1, as control), group II (K-2), and group III (K-3). Before treatment all rats were fasted for 12 hours, rats K-1 were induced with 1.0 ml of buffer citrate single peritoneal dose; rats K-2 were induced with 40 mg streptozotocin (STZ)/ kg body weight of single peritoneal dose; and rats K-3 were induced with 45 mg STZ /kg body weight of single peritoneal dose. On the 1st and 5th days after STZ induction, blood was collected through the coccygea vein to measure blood glucose levels and weigh the weight. On the day 5th the rats were euthanated with a high dose of ketamine, dissected and small intestines (duodenum, jejunum, and ileum) were taken for staining with Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-diaphorase (NADPH-d). Morphometric changes of nitregic neurons of the small intestine segments were observed. The results showed that on the 5th day increased blood glucose levels of the K-2 and K-3 groups were significantly higher than K-1 ($P < 0.01$). The weight of three groups did not show any significant improvement difference ($P > 0.05$). The number of neurons in the duodenum, jejunum and ileum of K-2 group increased higher than that of K-1 and K-3 groups. These results indicate that in hyperglycaemic states, the number of nitregic neurons was increased (K-2 group), and there was significant decrease in the number of neurons (group K-3) compared with K-1 and K-2 groups ($P < 0.01$). The results of this study concluded, that the STZ induction treatment causes hyperglycemia. Hyperglycemia does not affect to the body weight and the number of nitregic neurons of small intestines in Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*).

Key words: hyperglycemia; nitregic neurons; rat; small intestine; streptozotocin

Abstrak

Disfungsi pencernaan adalah gejala umum dari penyakit diabetes. Diabetes dapat menyebabkan hilangnya neuron enterik serta disfungsi saraf dan komplikasi gastrointestinal. Belum ada laporan lengkap gambaran saraf mienterik nitregik usus halus pada keadaan hiperglikemia, sehingga tujuan penelitian ini untuk mengetahui perubahan saraf mienterik nitregik usus halus pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia. Dua belas tikus diadaptasi selama 3 hari. Kemudian dibagi secara acak menjadi 3 kelompok yaitu kelompok I (K-1, sebagai kontrol), kelompok II (K-2), dan kelompok III (K-3). Tikus dipuasakan selama 12 jam sebelum perlakuan. Tikus K-1 diinduksi dengan 1,0 ml buffer sitrat dosis tunggal peritoneal; tikus K-2 diinduksi 40 mg streptozotocin (STZ)/ kg berat badan (bb) dosis tunggal peritoneal; dan tikus K-3 diinduksi 45 mg STZ/ kg bb dosis tunggal peritoneal. Pada hari ke-1 dan ke-5 setelah induksi STZ diambil darah melalui vena coccigea untuk mengukur kadar glukosa darah dan ditimbangan berat badan.

Kemudian tikus dieuthanasi dengan dosis tinggi ketamin, dibedah dan diambil usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) untuk pewarnaan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-diaphorase* (NADPH-d). Perubahan morfometrik neuron nitregik segmen usus halus diamati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hari ke-5 terjadi peningkatan kadar glukosa darah kelompok tikus K-2 dan K-3 lebih tinggi sangat signifikan dibandingkan K-1 ($P < 0.01$). Berat badan ketiga kelompok tidak menunjukkan ada perbedaan peningkatan yang signifikan ($P > 0,05$). Jumlah neuron di duodenum, jejunum dan ileum kelompok K-2 meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan K-1 dan K-3. Hasil ini menunjukkan bahwa dalam keadaan hiperqlikemia, jumlah neuron nitregik meningkat (kelompok K-2), dan ada penurunan jumlah neuron (kelompok K-3) sangat signifikan dibandingkan dengan kelompok K-1 dan K-2 ($P < 0.01$). Hasil penelitian ini disimpulkan, bahwa perlakuan induksi STZ menyebabkan hiperqlikema. Hiperqlikemia tidak menyebabkan perubahan bobot badan dan jumlah neuron mienterik nitregik usus halus tikus Wistar (*Rattus norvegicus*).

Kata Kunci : hiperqlikemia; neuron nitregik; tikus; usus halus; streptozotocin

Pendahuluan

Neuron nitregik adalah sel saraf yang transmisinya dimediasi oleh nitrik oksida (NO). Di gastrointestinal (GI) nitregik neurotransmisi memainkan peran penting sebagai neurotransmitter non-kolinergik (NANC) utama. Neuron nitregik di pleksus mienterik adalah neuron motorik penghambat otot dan *interneuron descending*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa neuron mienterik nitregik sangat rentan terhadap perkembangan neuropati pada penyakit saluran pencernaan, seperti diabetes. Streptozotocin (STZ) dapat menginduksi tikus menjadi diabetes yang menyebabkan neuropati enterik (Bagyanszki dan Bodi, 2012).

Neuron hampir secara eksklusif membutuhkan glukosa sebagai energi. Pemeliharaan kadar glukosa darah sangat penting untuk berfungsinya sistem saraf (James dan McFadde, 2004). Glukosa yang tinggi menurunkan kelangsungan hidup dan perkembangan neurit. Peningkatan kadar glukosa darah *in vitro* pada tikus, awalnya menyebabkan apoptosis neuron simpatiknya, lama-lama berakhir pada kematian sel neuron (Schmidt, 2001). Kematian apoptosis beberapa neuron sensorik dan sel schwann (Tolkovsky, 2002). Neuron degenerasi disebabkan karena kematian sel apoptosis pada ganglia yang selektif untuk neuron nitregik (Cellek, *et al.*, 2003).

Kadar glukosa tinggi dalam tubuh menyebabkan neuropati dalam simpatik celiac/ganglion mesenterika (Semra *et al.*, 2004). Neuropati diabetik menunjukkan konduksi impuls lambat, degenerasi aksonal, dan regenerasi terganggu. Neuropati diabetik perifer mempengaruhi, tengah, dan viseral sensori motor, dan saraf motorik, menyebabkan gerak yang tidak benar dan disfungsi organ visceral (Skundric dan Lisak, 2003).

Beberapa penelitian tentang pengaruh induksi STZ pada tikus menyebabkan hiperqlikemia dan menunjukkan penurunan progresif neuron nitregik dalam pleksus mienterikus dari antrum dan jejunum (Demedts *et al.*, 2013); di duodenum dan cecum (Fregonesi *et al.*, 2001); di lambung, di duodenum, ileum caecum, kolon proksimal (Neto *et al.* (2004), Zanoni *et al.* (2009), Pereira *et al.* (2009), dan Silverio *et al.* (2008). Namun hiperqlikemia juga dapat tidak menyebabkan perubahan area jejunum-ileum dan jumlah neuron nitregik jejunum (Silverio *et al.*, 2008). Namun belum ada laporan lengkap tentang saraf mienterik nitregik usus halus pada keadaan hiperqlikemia, sehingga tujuan penelitian ini untuk mengetahui perubahan saraf mienterik nitregik usus halus pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) hiperqlikemia.

Materi dan Metode

Seluruh metode pelaksanaan penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etika Penelitian LPPT No. 339KEC-LPPT/X/2015. Untuk pemeliharaan hewan percobaan, induksi hiperglikemia, pengukuran kadar glukosa darah dan pengukuran berat badan tikus dilakukan di Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM (UPHP UGM); persiapan dan pewarnaan NADPH-d segmen usus halus tikus dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM.

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 12 tikus galur Wistar jantan (*Rattus norvegicus*), berusia 2 bulan dan dalam kisaran berat badan 142-177 gram. Semua tikus diperoleh dari UPHP UGM, dipelihara di UPHP UGM di kandang individu (13x24x16 cm³) pada suhu lingkungan rata-rata 24-26°C dan kelembaban rata-rata 58-62%, diterangi oleh lampu fluoresen. Pakan yang diberikan adalah jenis Ad II (produksi PT Japfa Comfeed Indonesia, Tbk Unit Sidoharjo) dalam bentuk pelet, air minum Ro dan STZ yang digunakan produksi Sigma, St. Louis, USA).

Semua tikus diadaptasi dalam kandang selama 3 hari dengan makanan dan minum *ad libitum*. Setelah adaptasi semua tikus dibagi secara acak menjadi 3 kelompok yaitu : kelompok I (K-1, sebagai kontrol), kelompok II (K-2), dan kelompok III (K-3), masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus. Setelah semua tikus dipuasakan selama 12 jam, maka setiap tikus kelompok K-1 diinduksi dengan 1,0 ml buffer sitrat dosis tunggal peritoneal; setiap tikus kelompok K-2 diinduksi 40 mg STZ/ kg bb dosis tunggal peritoneal; dan setiap tikus kelompok K-3 diinduksi 45 mg STZ/ kg bb dosis tunggal peritoneal. Pada hari ke-1 dan ke-5 setelah induksi STZ dilakukan pengambilan darah melalui vena coccigea untuk mengukur kadar glukosa darah dan dilakukan penimbangan berat badan. Pada

hari kelima, semua tikus dipuasakan selama 12 jam, segera setelah itu, tikus dieuthanasi dengan dosis tinggi ketamin. Kemudian, setiap tikus dibedah dan diambil usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) untuk pewarnaan NADPH-d. Perubahan morfometrik neuron nitregik dari segmen usus halus diamati.

Pengukuran kadar gula darah dilakukan menggunakan strip glucometer digital (Accu-chek® Advantage, Roche Diagnostic, Germany). Kadar glukosa darah dibaca di layar Glucometer setelah 11 detik dan kadar glukosa darah dinyatakan dalam mg / dL

Teknik pewarnaan NADPH-d pada segmen usus halus dilakukan dengan cara sebagai berikut : mula-mula segmen dicuci tiga kali dengan larutan PBS, kemudian dimasukkan dalam larutan 4% paraformaldehyde. Mukosa dan otot segmen usus halus dipisahkan dengan menggunakan stereomikroskopik. Otot yang diperoleh diinkubasi dalam larutan 50mg β *nitroblue tetrazolium* (NBT) yang dicampur dengan 100mg β NADPH-d dalam 0,3% Triton X-100 dalam buffer 0,05 M Tris-HCl (0,1 M pH 7,4) pada suhu 37°C. Kemudian ditempatkan pada gelas *slide* dan ditetesi gliserin (Lee dan Nam, 2006; Ramos-Vara, 2005; Neunlist *et al.*, 2003).

Perubahan morfometrik neuron nitregik segmen usus halus yang diamati adalah perubahan bentuk, distribusi dan jumlah neuron. Jumlah neuron/1cm² ditentukan untuk 40 bidang pandang menggunakan mikroskop digital Optilab pada pembesaran 10x10 menggunakan 40x objektif dan terhubung ke sistem komputer untuk analisis gambar.

Data berat badan, kadar glukosa darah dan jumlah neuron dianalisis secara statistik dengan ANOVA pola searah dan uji jarak berganda Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Kadar glukosa darah tikus kelompok K-1, K-2, dan

K-3 hari ke-1 sampai ke-5 setelah induksi STZ ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata dan standar deviasi kadar glukosa darah tikus kelompok K-1, K-2 dan K-3 selama 5 hari

Kelompok Tikus	Kadar glukosa darah (mg/dL) hari ke-				
	1	2	3	4	5
K-1	124,25±8,42 ^d	131,25±10,87 ^d	131,50±3,87 ^d	122,00±1,41 ^d	114,25±5,91 ^d
K-2	130,00±4,08 ^d	400,50±17,33 ^b	468,00±18,79 ^a	397,50±32,19 ^b	339,00±9,02 ^c
K-3	133,25±5,79 ^d	441,25±21,17 ^a	443,75±56,22 ^a	340,25±18,84 ^c	363,75±30,29 ^c

Keterangan : K-1 : kelompok kontrol (0 mg STZ mg/kg bb); K-2 : perlakuan dengan 40mg STZ mg/kg bb; K-3 perlakuan dengan 45mg STZ mg/kg bb. *Superscript* berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan, p<0,05

Hasil analisis statistik kadar glukosa darah menunjukkan bahwa sebelum induksi STZ, kadar glukosa darah puasa tidak berbeda secara signifikan antara kelompok tikus K-1, K-2, dan K-3 (p >0,05). Kadar glukosa darah meningkat secara bertahap selama lima hari dengan pemberian STZ. Tikus kontrol mendapat perlakuan dengan buffer sitrat untuk mempertahankan kadar glukosa darah normal selama 5 hari. Setelah hari ke 5 penelitian, tikus dalam kelompok K-2 dan K-3 menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah sangat signifikan dibandingkan dengan kelompok K-1 (kontrol) (p <0,01). Kadar glukosa darah pada tikus ini tetap tinggi selama 5 hari. Namun peningkatan kadar glukosa darah kelompok K-2 tidak berbeda signifikan dibanding K-3 (p>0,05).

Menurut Miranda *et al.* (2004) dan Watkins *et al.* (2000), ketika tikus disuntik dengan STZ, maka tikus menjadi hewan model hiperglikemia. Tikus diinjeksi dengan STZ untuk menciptakan model hewan hiperglikemik. Tikus yang diinduksi STZ menunjukkan kadar glukosa darah yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan tikus kontrol normal.

Pada penelitian ini penggunaan dosis 40mg STZ/kg bb dan 45mg STZ/kg bb didasarkan dari beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk menginduksi hiperglikemia. Setelah dua bulan tikus

Wistar umur 75 hari diinjeksi dosis tunggal 35 mg STZ/ kg bb intravena menunjukkan diabetes (Fregonesi *et al.*, 2001); setelah tiga hari tikus Wistar 250-300 gram, umur 75-90 hari diinjeksi dosis tunggal 60 mg STZ/ kg bb intravena menunjukkan hiperglikemia (Akbarzadeh *et al.*, 2007); 90 hari setelah tikus diinjeksi STZ dengan dosis 50mg/kg berat badan menunjukkan hiperglikemia (Silverio *et al.*, 2008); dan setelah 8 minggu tikus albino diinjeksi dosis tunggal STZ 45 mg/kg bb intraperitoneal menunjukkan hiperglikemia (Zafar and Naqvi, 2010).

Menurut Zafar and Naqvi (2010) dan Akbarzadeh *et al.* (2007), STZ dapat berefek toksik, merusak permanen pada sel-sel beta Langerhans pankreas. Induksi STZ pada tikus menyebabkan pankreas membengkak hingga menyebabkan degenerasi sel-sel beta Langerhans pankreas dan hilangnya kemampuan untuk mensekresikan insulin akibatnya terjadi hiperglikemia.

Pemberian dosis tunggal 40mg STZ / kg bb pada kelompok tikus K-2 setelah 5 hari menunjukkan kadar glukosa darah lebih tinggi (hiperglikemia) daripada kelompok kontrol, dan pemberian dosis tunggal 45 mg STZ / kg bb pada kelompok K-3 menunjukkan hiperglikemia yang lebih tinggi dari pada kelompok K-2. Temuan ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis STZ yang diberikan, semakin tinggi

hiperglikemia yang dihasilkan.

Hasil ini didukung dengan penimbangan berat badan. Data berat badan tikus kelompok K-1, K-2, dan

K-3 sebelum diinjeksi STZ dan setelah 5 hari injeksi STZ ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata dan standar deviasi berat badan tikus kelompok K-1, K-2 dan K-3 hari ke-1 dan ke-5

Kelompok Tikus	Berat Badan (gram)	
	Hari ke-1	Hari ke-5
K-1	148,90 ± 7,31 ^a	164,20 ± 6,91 ^a
K-2	159,40 ± 8,39 ^a	161,47 ± 5,34 ^a
K-3	159,77 ± 6,18 ^a	161,5 ± 4,29 ^a

Keterangan : K-1 : kelompok kontrol (0 mg STZ/kg bb); K-2 : perlakuan dengan 40mg STZ/kg bb; K-3 perlakuan dengan 45mg STZ/kg bb. *Superscript* sama menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan, $p > 0,05$

Setelah hari ke-5 perlakuan induksi STZ hasil analisis statistik terhadap berat badan kelompok K-1, K-2 dan K-3 tidak menunjukkan ada perbedaan peningkatan yang signifikan diantara ketiga kelompok ($P > 0,05$).

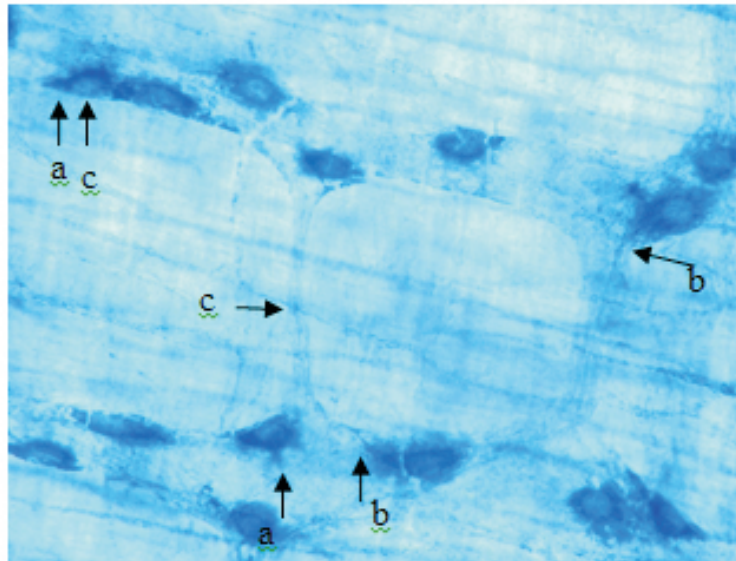
Menurut James dan McFadden (2004), glukosa merupakan salah satu bahan bakar utama tubuh. Dalam usus halus, glukosa diabsorpsi ke dalam darah menuju hepar melalui pembuluh darah portal. Hepatosit mengabsorpsi banyak glukosa dan mengubahnya menjadi glikogen, suatu polimer larut glukosa. Glikogen disimpan di dalam hepar dan dapat dikonversi menjadi glukosa ketika kadar glukosa darah turun. Jenis gula sederhana seperti fruktosa, sukrosa dan laktosa juga bahan bakar yang berkontribusi terhadap produksi Adenotri fosfat. Semua sel-sel tubuh perlu membuat energi dan sebagian besar dapat menggunakan bahan bakar lain yaitu lipid.

Melalui aksi alkilasi DNA, induksi STZ pada tikus menyebabkan pankreas membengkak hingga menyebabkan nekrosis sel-sel beta Langerhans pankreas yang memproduksi hiperglikemia dan kehancuran selektif sel yang memproduksi insulin (hipoinsulinemia). Selanjutnya berat badan menurun. Turunnya berat badan disebabkan peningkatan akumulasi trigliserida yang mengarah ke pembesaran

yang bisa menyebabkan peningkatan masuknya asam lemak ke dalam hati yang diinduksi oleh hypoinsulinemia dan rendahnya kapasitas ekskresi sekresi lipoprotein dari hati yang dihasilkan dari kekurangan sintesis apolipoprotein (Zafar dan Naqvi, 2010; Akbarzadeh *et al.*, 2007). Pada penelitian ini, waktu 5 hari setelah injeksi STZ belum menunjukkan penurunan berat badan disebabkan karena efek STZ menyebabkan hipoinsulin, tapi masih ada lipid yang dapat memproduksi energi untuk kelangsungan hidup neuron.

Hasil penelitian bentuk dan distribusi neuron mienterik nitrengik duodenum, jejunum dan ileum sama, sehingga untuk mewakili bentuk neuron diambil dari duodenum (Gambar 1).

Setelah 5 hari diinjeksi STZ jumlah neuron/1cm² tikus kelompok K-1, K-2 dan K-3 terhadap jumlah neuron mienterik nitrengik segmen usus halus ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 2.



Gambar 1. Bentuk neuron mienterik nitrengik duodenum tikus Wistar. Keterangan : a. dendrit, b. akson, c. nukleus, d. nervus. Mikroskop cahaya, pewarnaan NADPH-d, perbesaran 10x40.

Setelah 5 hari diinjeksi STZ jumlah neuron/1cm² tikus kelompok K-1, K-2 dan K-3

terhadap jumlah neuron mienterik nitrengik segmen usus halus ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Tabel 3. Jumlah neuron mienterik nitrengik duodenum, jejunum, dan ileum/1cm² kelompok tikus K-1, K-2 dan K-3.

Kelompok	Jumlah neuron mienterik nitrengik/1 cm ²		
	duodenum	jejunum	ileum
K-1	220,59±95,87 ^a	274,06±81,23 ^a	293,45±70,28 ^a
K-2	278,08±249,57 ^a	334,23±30,25 ^a	328,88±200,41 ^a
K-3	234,40±219,91 ^a	270,05±191,19 ^a	187,17±198,13 ^a

Keterangan : K-1 : kelompok kontrol (0 mg STZ mg/kg bb); K-2 : perlakuan dengan 40mg STZ/kg bb; K-3 perlakuan dengan 45mg STZ/kg bb. *Superscript* sama menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan, p>0,05

Hasil statistik jumlah neuron mienterik nitrengik/ 1cm² segmen usus halus tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (p>0,05). Namun tampak pada Gambar 2 jumlah neuron di duodenum, jejunum dan ileum kelompok K-2 meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan K-1 dan K-3 meskipun tidak berbeda signifikan antara ketiga kelompok. Hasil ini menunjukkan bahwa dalam keadaan hiperglikemia, jumlah neuron nitrengik meningkat (kelompok K-2), dan ada penurunan jumlah neuron (kelompok K-3) meskipun secara statistik tidak berbeda signifikan.

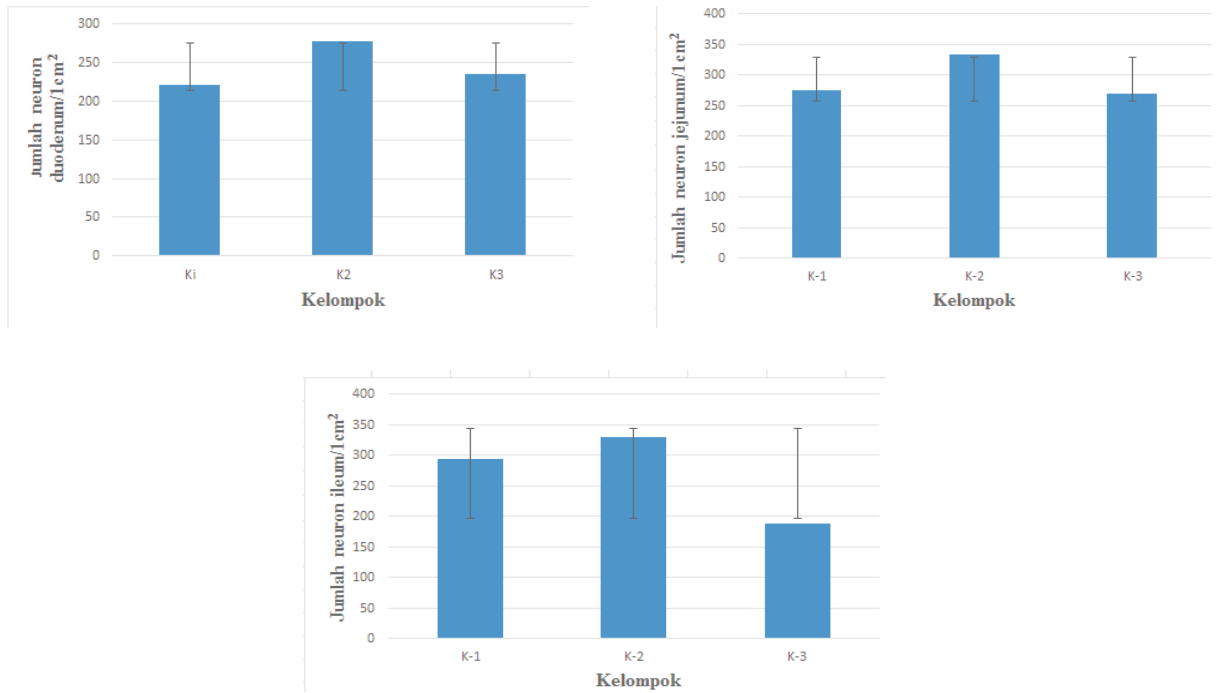
Peningkatan jumlah neuron nitrengik pada kelompok K-2 menunjukkan ada peningkatan

produksi nitrat oksida (NO), yang menyebabkan penurunan tonus otot dan lumen usus halus membesar (dilatasi), karena neuron ini bersifat penghambat. Dengan demikian, aktivitas duodenum, jejunum dan ileum dalam kelompok K-2 menjadi lambat.

Menurut Schmidt (2001) dan Tolkovsky (2002), peningkatan konsentrasi glukosa pada tikus, awalnya menyebabkan apoptosis neuron simpatik yang berakhir pada kematian sel neuron. Apoptosis beberapa neuron sensorik dan sel schwann. Kematian neuron degenerasi disebabkan karena kematian sel apoptosis pada ganglia yang selektif untuk neuron nitrengik (Cellek, *et al.*, 2003). Disfungsi neuron

nitregik dapat menyebabkan berbagai penyakit GIT (Oliveira dan Goncalves, 2010). Hiperglikemia menginduksi hilangnya neuronal melalui pengurangan dalam signaling kelangsungan

hidup Akt-dimediasi. Hiperglikemia menyebabkan banding neuron melalui penurunan Akt-dimediasi kelangsungan hidup (Anitha *et al.*, 2006)



Gambar 2. Jumlah neuron mienterik nitregik duodenum)/1cm² , jejunum)/1cm² , dan ileum)/1cm² tikus kelompok K-1, K-2, dan K-3.

Menurut Dawson (1995), kelebihan NO dapat menyebabkan neurotoksik. Neuron mengalami proses degeneratif dalam dua tahap, yaitu mula-mula ekspresi nNOS menurun dalam akson nitregik (sementara tingkat nNOS tidak terpengaruh dalam sel tubuh). Selanjutnya ada gangguan dalam transportasi nNOS di akson. Oleh karena nNOS tidak dapat diangkut ke akson, maka nNOS terakumulasi dalam sel tubuh sehingga terjadi peningkatan nNOS protein dan produksi NO bertepatan dengan akumulasi akhir produk glikasi lanjut (Adanced Glycation Endproducts, AGEs) dalam darah dan jaringan. Sinergi dari AGE dan endogen NO menyebabkan peningkatan stres oksidatif dalam sel tubuh mengakibatkan apoptosis (Semra *et al.*, 2006).

Penurunan jumlah neuron nitregik tikus kelompok K-3, menyebabkan penurunan aktivitas neuronal, diikuti dengan perubahan-perubahan degeneratif, terjadi penyimpangan dalam neurotransmisi nitregik. Hal ini dapat disebabkan karena fungsi sel berkurang atau kematian sel, terutama sel-sel yang tidak menghasilkan NO. Penurunan jumlah neuron menurunkan produksi nitrit oksida (NO), maka akan terjadi peningkatan tonus otot dan lumen usus halus mengecil (menyempit), sehingga aktivitas duodenum dan jejunum tikus kelompok K-3 mengalami peningkatan gerak.

Pemberian dosis tunggal STZ selama 5 hari pada kelompok tikus K-2 dan K-3 menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah, penurunan berat

badan, dan peningkatan jumlah neuron, dibandingkan dengan tikus kelompok K-1. Namun, jumlah neuron di kelompok tikus K-3 lebih rendah daripada K-2. Oleh karena itu, semakin tinggi tingkat hiperglikemia, semakin besar penurunan jumlah neuron mienterik nitregik dari segmen usus halus meskipun tidak signifikan.

Kesimpulan

Hasil penelitian ini disimpulkan, bahwa hiperglikemia tidak menyebabkan perubahan bobot badan dan jumlah neuron mienterik nitregik usus halus tikus Wistar (*Rattus norvegicus*).

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung biaya Dana Masyarakat (PNBP) FKH UGM sesuai surat perjanjian pelaksanaan kegiatan nomor : 1181/j01.1.22/hk4/2015 tanggal 11 Mei 2015. Penulis mengucapkan terima kasih kepada FKH UGH yang telah memfasilitasi penelitian ini

Daftar Pustaka

Akbarzadeh, A.D., Norouzian, M.R., Mehrabi, S.h., Jamshidi, A., Farhangi, A.A., Verdi, S.M.A., Mofidian, and B.L. Rad. 2007. Induction of Diabetes By Streptozotocin In Rats. *J.Clin. Biochemistry*. 22(2):60-64

Anitha, M., Gondha, C., Sutliff, R., Parsadonian, A., Mwangi, S., Sitaraman, S.V., and Srinivasan, S. 2006. GDNF Rescues Hyperglycemia-Induced Diabetic Enteric Neuropathy Through Activation of The P13K/AKT Pathway. *J.Clin.Invest*. 116(2):344-56. Abstract

Bagyanszki, M. And Bodi, N. 2012. Diabetes-Related Alterations In The Enteric Nervous System And Its Microenvironment. *World. Diabetes*. 3(5):80-93

Cellek, S., N.A. Foxwell and S. Moncada, 2003. Two phases of nitregic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 52: 2353-2362. DOI: 10.2337/diabetes.52.9.2353; PMID 12941776.

Dawson, V.L., 1995. Nitric oxide: Role in neurotoxicity. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 22: 305-308. DOI: 10.1111/j.1440-1681.1995.tb02005.x.

Demedts, I., Masaoka, T., Kindt, S., De Hertogh, G., Geboes, K., Farr, R., Berghe, P.V., and Tack, J. 2013. Gastrointestinal Motility Changes and Myenteric Plexus Alterations In Spontaneously Diabetic Biobreeding Rats. *J. Neurogastroenterol Motil*. 19(2):161-170.

Fregonesi, C.E.P.T, Miranda-Neto, M.H., Molinari, S.L., and Zanoni, J.N. 2001. Quantitative Study of The Myenteric Plexus of The Stomach of Rats With Streptozotocin-Induced Diabetes. *Arq. Neuropsiquiatr*. 59(1):50-53.

James, P., and McFadden, R. 2004. Understanding The Processes Behind The Regulation of Blood Glucose. 100(16):56-58. Pdf. <https://www.nursingtimes.net>

Lee, H.S. and Y.S. Nam, 2006. Immunohistochemical localization of calcium binding proteins and some neurotransmitters in myenteric plexus of goat stomach. *J. Vet. Sci.*, 7: 315-319. DOI: 10.4142/jvs.2006.7.4.315; PMID 17106220.

Miranda NMH, Fregonesi CEPT, Molinari SL, Alves AMP, Defani MA, Zanoni JN, Bazotte RB. 2004. Evaluation of The Nitregic Myenteric Neurons in The Distal Colon of Diabetic Rats Treated With Acetyl-L-Carnitine. *J Morphol Sci* 21 (2): 105-110

Neto, M.H.M., Fregonesi, C.E.P.T., Molinari, S.L., Alves, A.M.P., Defani, M.A., Zanoni, J.N., Bazotte, R.B. 2004. Evaluation of The Nitregic Neurons In The Distal Colon of Diabetic Rats Treated With Acetyl L-Carnitine. *Braz.J.moephol.Sci*. 21(2):105-110.

Neunlist, M., P. Aubert, C. Toquet, T. Oreshkova, J. Barouk, P.A. Lehur, M. Schemann and J.P. Galmiche, 2003. Changes in chemical coding of myenteric neurones in ulcerative colitis. *Gut*, 52: 84-90. DOI: 10.1136/gut.52.1.84; PMID PMC1773507.

Oliveira, J.M.A. and J. Gonçalves, 2010. Guanylate cyclase regulates ileal longitudinal muscle contractions induced by neurogenic nitregic activity in the rat. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 37: 375-377. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05271.x; PMID 19671068.

Pereira, M.A.S., Liberati, A.P., Souza, I.D.S, and Zanoi, J.N. 2009. Density and Morphometry of Overall Myenteric Neurons opulation From

- The Duodenum of Diabetic Rats (*Rattus norvegicus*) Under Ascorbic Acid Supplementation. *Int. J. Morphol.*, 27(2):413-418.
- Ramos-Vara, J.A., 2005. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet. Pathol.*, 42: 405-426. DOI: 10.1354/vp.42-4-405; PMID 16006601.
- Schmidt, R.E., 2001. Neuronal preservation in the sympathetic ganglia of rats with chronic streptozotocin-induced diabetes. *Brain Res.*, 921: 256-259. DOI: 10.1016/S0006-8993(01)03155-9; PMID 11720733.
- Semra, Y.K., M. Wang, N.J. Peat, N.C. Smith, H.R. Shotton and J. Lincoln, 2006. Selective susceptibility of different populations of sympathetic neurons to diabetic neuropathy in vivo is reflected by increased vulnerability to oxidative stress in vitro. *Neurosci. Lett.*, 407: 199-204. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.08.045; PMID 16973273.
- Semra, Y.K., N.C. Smith and J. Lincoln, 2004. Comparative effects of high glucose on different adult sympathetic neurons in culture. *Neuroreport*, 15: 2321-2325. DOI: 10.1097/00001756-200410250-00004; PMID 15640748.
- Silverio, S.M., Mari, R.B., Clebis, N.K., Scoz, J.R., Germano, R.M., Agreste, F., Bombonato, P.P., and Stabile, S.R. 2008. Assessment of NADPH-Diaphorase Stained Myenteric Neurons of The Jejunum of Diabetic Rats Supplemented With Ascorbic Acid. *J. Pesq.Vet.Bras.* 28(2)
- Skundric, D.S., and Lisak, R.P. 2003. Role of Neurotrophic Cytokines in Development and Progression of Diabetic Polyneuropathy : From Glucose Metabolism to Neurodegeneration. *Exp Diabetes Res.* 4(4),303-12.
- Tolkovsky, A., 2002. Apoptosis in diabetic neuropathy. *Int. Rev. Neurobiol.*, 50: 145-159. DOI: 10.1016/S0074-7742(02)50076-3; PMID 12198809.
- Watkins, C.C., A. Sawa, S. Jaffrey, S. Blackshaw, R.K. Barrow, S.H. Snyder and C.D. Ferris, 2000. Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression and function that is lost in diabetic gastropathy. *J. Clin. Invest.*, 106: 373-384. DOI: 10.1172/jci8273; PMID 10930440.
- Zafar, M. And Naqvi, S.N.H. 2010. Effect of STZ-Induced Diabetes on The Relative Weights of Kidney, Liver and Pancreas In Albino Rats : A Comparative Study. *Int. J. Morphol.*, 28(1)135-142.
- Zanoni, J.N., Pereira, P.G.C and Pereira, M.A.S. 2009. Analysis of Myenteric Neurons of The Cecum of Diabetic Rats After Supplementation With Ascorbic Acid. *Int. J. Morphol.* 27(2):387-392.