

KK  
KKA  
TKD 38/11  
Har  
e

# TESIS

## EFEK OKSIGENASI HIPERBARIK TERHADAP PENINGKATAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2



Oleh:

**TITUT HARNANIK**  
**NIM : 090610110 M**

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

**PROGRAM PASCASARJANA**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**SURABAYA**  
**2008**

**EFEK OKSIGENASI HIPERBARIK TERHADAP  
PENINGKATAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA  
PENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2**

**TESIS**

Untuk Memperoleh Gelar Magister  
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh:

**TITUT HARNANIK  
NIM : 090610110 M**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2008**

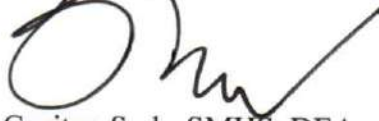
**LEMBAR PENGESAHAN**

TESIS TELAH DISETUJUI UNTUK DIUJI

TANGGAL 26 AGUSTUS 2008


Oleh

Pembimbing Ketua



Dr. H.M Guritno S, dr, SMHS, DEA  
Laksamana Pertama TNI

Pembimbing



Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS  
NIP. 130934628

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof. Retno Handajani, dr., MS., PhD  
NIP. 1305411984

## **PANITIA PENGUJI TESIS**

**Diuji pada tanggal 26 Agustus 2008**

**Ketua : Prof. Dr. Sunarko Setyawan, dr., MS**

**Anggota : Prof. Dr. H.M.S Wiyadi, dr., Sp.THT-KL (K)**  
**Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS**  
**Dr. H.M. Guritno S, dr, SMHS., DEA**  
**Muhammad Cholil Munif, dr., AIFM**

# UCAPAN TERIMA KASIH

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Allah Yang Maha Pengasih Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. H.M. Guritno S., dr., SMHS., DEA selaku pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, saran, nasehat, untuk menyelesaikan Pendidikan Program Magister Ilmu Kedokteran Dasar Minat Studi Hiperbarik pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Fasich, Drs., Apt atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister
2. Ketua Tim Koordinator Program Studi Magister Prof. Dr. Harjanto JM, dr., MS atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa
3. Mantan Kadiskesal Laksamana Pertama TNI drg. Budhi Siswanto, MM yang telah memberikan ijin untuk mengikuti pendidikan ini

4. Karumkital Dr. Ramelan Surabaya Laksamana Pertama TNI dr. Winarno, Sp. OG yang telah memberikan banyak bantuannya dalam kami memeriksa sampel laboratorium peserta coba
5. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Prof. Retno Handajani, dr., MS., PhD dalam menyelesaikan Pendidikan Program Magister Hiperbarik
6. Ketua Minat Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Magister Hiperbarik Prof. Dr. Sunarko Setyawan, dr., MS atas segala nasehat, dorongan, bimbingan sejak awal pendidikan sehingga dapat menyelesaikan tesis ini
7. Kepala Lembaga Kesehatan Kelautan (LAKESLA) Kolonel Laut (K) dr. Hadi Soesilo, SpM yang telah memberikan kesempatan, nasehat, dorongan dan bantuan yang begitu besar selama pendidikan terutama dalam penelitian sehingga kami dapat menyelesaikan tesis ini
8. Staf Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Muh. Cholil Munif, dr., AIFM selaku konsultan statistik
9. Staf Ilmu Statistik Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya Abdul Cholig, Adm selaku konsultan statistik
10. Laboratorium Biokimia FK UNBRAW dalam memeriksa kadar SOD, Hsp 70 dan TNF- $\alpha$  darah
11. Pelda (RUM) Pudjohadi, rekan sejawat di LAKESLA dan semua pihak yang telah banyak membantu penulis dan tidak dapat saya sebut satu persatu dalam kesempatan ini
12. Para penderita Diabetes Mellitus yang telah bersedia menjadi orang diteliti.

Akhir kata, saran dan masukan untuk melengkapi tesis ini, tentunya sangat saya harapkan, dan tersirat harapan semoga tesis ini bermanfaat bagi penelitian lebih lanjut.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan rahmat dan karuniaNya sebagai balasannya.

Surabaya, Agustus 2008

Penulis



**RINGKASAN**

## RINGKASAN

Untuk mengetahui efek oksigenasi hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari terhadap kadar gula darah, *superoxide dismutase* (SOD), *heat shock protein 70* (Hsp 70) dan *tumour necrosis factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) pada penderita diabetes mellitus tipe 2, dilakukan suatu penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *randomized pre test- post test control group design*, yang terdiri dari 2 (dua) kelompok. Kelompok pertama sebagai kelompok perlakuan dan kelompok kedua sebagai kelompok kontrol.

Pada penelitian yang dilakukan di LAKESLA ini, 13 orang laki-laki penderita DM tipe 2, berusia 45 – 65 tahun, mendapatkan paparan oksigenasi hiperbarik sekali sehari, selama 10 hari berturut-turut, dosis tekanan 2,4 ATA dan lama pemberian oksigen 3x30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa, dilakukan pemeriksaan kadar gula darah, SOD, Hsp 70 dan TNF- $\alpha$  sebelum paparan, setelah paparan ke 5 dan setelah paparan ke 10, dan 13 orang laki-laki kelompok kontrol dengan kondisi normoksi normobarik, dilakukan pemeriksaan kadar gula darah, SOD, Hsp 70 dan TNF- $\alpha$  pada hari pertama, kelima dan kesepuluh.

Pengukuran gula darah dengan metode enzimatik, SOD dengan menggunakan spektrofotometer, Hsp 70 dan TNF- $\alpha$  dengan ELISA. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji manova dan analisa diskriminan.

Hasil yang didapat pada kelompok OHB, terjadi penurunan bermakna ( $p < 0,05$ ) dari kadar gula darah awal (rerata 179,85 simpang baku 72,43) menjadi (rerata 106,23 simpang baku 27,84) pada hari kelima, dan kemudian terjadi peningkatan secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dari (rerata 106,23 simpang baku 27,84) hari ke 5 menjadi (rerata 115,31 simpang baku 44,81) pada hari ke sepuluh, tetapi kadarnya masih dibawah kadar gula darah awal. Pada pemeriksaan SOD, terjadi peningkatan secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dari kadar SOD awal (rerata 1,06 simpang baku 0,15) menjadi (rerata 2,28 simpang baku 0,61) pada hari kelima, dan terjadi penurunan secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dari (rerata 2,28 simpangan baku 0,61) pada hari ke 5 menjadi (rerata 2,11 simpang baku 0,56) pada hari ke 10. Pada kadar Hsp 70 terjadi peningkatan secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) pada hari ke 5 dan hari ke 10 dibanding kadar Hsp 70 awal dari (rerata 1,67 simpang baku 0,31) menjadi (rerata 1,71 simpang baku 0,27). Dan pada pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  terjadi peningkatan secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dari kadar TNF- $\alpha$  awal (rerata 0,43 simpang baku 0,04) menjadi (rerata 0,43 simpang baku 0,04), kemudian menurun secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dari (rerata 0,43 simpang baku 0,04) pada hari ke 5 menjadi (rerata 0,41 simpang baku 0,04) pada hari ke 10.

Pada kelompok kontrol besar perubahan yang terjadi pada penurunan kadar gula darah tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) jika dibanding kelompok OHB dari (rerata 179,85 simpang baku 72,43) pada awal menjadi (rerata 167,23 simpang baku 41,39) pada hari ke 10. Pada variabel lain yang diperiksa, besar perubahan yang terjadi tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dibanding kelompok OHB yang diperiksa.

OHB 5 hari berturut-turut lebih efektif dan efisien dan akan memberikan efek yang optimal terhadap penurunan kadar gula darah dibanding OHB 10 hari berturut-turut.

---

**Kata Kunci : Oksigenasi Hiperbarik, Antioksidan, Diabetes Mellitus Tipe 2**

**ABSTRACT**

## ABSTRACT

The effect of hyperbaric oxygenation (HBO) on blood glucose, superoxide dismutase (SOD), heat shock protein 70 (Hsp 70) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) on diabetes mellitus type 2 patients was investigated.

An experimental laboratory study was performed at LAKESLA in Surabaya. Thirteen diabetic patients were exposed to 100% O<sub>2</sub> at 2,4 ATA, 3x30 minutes with interval 5 minutes breathing air, once a day on ten consecutive days, and thirteen diabetic patients man as control with normoksia normobaric.

The blood glucose, SOD, Hsp 70 and TNF- $\alpha$  were evaluated before the first session, after the fifth session and after the tenth session HBO exposures. The measurement of blood glucose using enzymatic methode, SOD using spectrophotometry, measurement of Hsp 70 and TNF- $\alpha$  using ELISA.

On HBO group, blood glucose decreased significantly ( $p < 0.05$ ) from (mean 179.85 standart deviation 72.43) before the first session to (mean 106.23 standart deviation 27.84) after the fifth session, and did not increase significantly ( $p > 0.05$ ) from (mean 106.23 standart deviation 27.84) on the fifth session to (mean 115.31 standart deviation 44.81) after the tenth session. SOD did not increase significantly ( $p > 0.05$ ) from (mean 1.06 standart deviation 0.15) before the first session to (mean 2.28 standart deviation 0.61) after the fifth session, and did not decrease significantly ( $p > 0.05$ ) from (mean 2.28 standart deviation 0.61) on the fifth session to (mean 2.11 standart deviation 0.56) after the tenth session. Hsp 70 did not increase significantly ( $p > 0.05$ ) from (mean 1.67 standart deviation 0.31) before the first session to (mean 1.71 standart deviation 0.27) after the tenth session. In this group TNF- $\alpha$  did not increase significantly ( $p > 0.05$ ) from (mean 0.43 standart deviation 0.04) before the first session to (mean 0.43 standart deviation 0.04) after the fifth session, and did not decrease significantly ( $p > 0.05$ ) from (mean 0.43 standart deviation 0.04) on the fifth session to (mean 0.41 standart deviation 0.04) after the tenth session.

On the evaluated control group, the change value blood glucose level did not decrease significantly ( $p > 0.05$ ) from (mean 179.85 standart deviation 72.43) before the first session to (mean 167.23 standart deviation 41.39) after the tenth session, and the other parameters change value did not differ significantly ( $p > 0.05$ ).

Five consecutive days of hyperbaric oxygenation is more effective and efficient than hyperbaric oxygenation for ten consecutive days in DM type 2.

---

**Key words : Hyperbaric Oxygenation, Antioxidant, Diabetes Mellitus Type 2**

## DAFTAR ISI



## DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Prasyarat .....	ii
Lembar Pengesahan .....	iii
Panitia Penguji Tesis.....	iv
Ucapan Terimakasih .....	v
Ringkasan .....	viii
Abstract.....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
DAFTAR SINGKATAN .....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Oksigen Hiperbarik.....	7
2.1.1 Aspek Fisika .....	7

2.1.2	Aspek Fisiologis .....	9
2.2	Diabetes Mellitus .....	12
2.2.1	Batasan Diabetes Mellitus .....	12
2.2.2	Klasifikasi Diabetes Mellitus .....	13
2.2.3	Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2 (NIDDM).....	17
2.2.4	Kriteria Diagnosis .....	21
2.2.5	Kriteria Pengendalian Diabetes Mellitus .....	22
2.2.6	Prevalensi dan Komplikasi Diabetes Mellitus .....	22
2.3	Radikal Bebas dan Oksidan .....	25
2.4	Sintesa ATP dan Proses Terjadinya SOR di Mitokondria..	29
2.4.1	Sintesa ATP .....	29
2.4.2	Kegagalan Sintesa ATP .....	32
2.4.3	Proses Terjadinya SOR di Mitokondria.....	34
2.5	Antioksidan.....	37
2.5.1	Antioksidan Pencegah .....	38
2.5.2	Antioksidan Pemutus Rantai.....	39
2.5.3	Antioksidan Tersier .....	41
2.6	Terapi Oksigen Hiperbarik, Radikal Bebas dan Antioksidan	41
2.7	Hsp 70.....	43
2.8	TNF- $\alpha$ dan GLUT 4 .....	46
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS.....		49
3.1	Kerangka Konseptual.....	49
3.2	Hipotesis Penelitian .....	51



BAB 4 METODE PENELITIAN .....	52
4.1 Rancangan Penelitian.....	52
4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel.....	52
4.2.1 Populasi.....	52
4.2.2. Sampel .....	53
4.2.3 Besar Sampel .....	54
4.3 Variabel Penelitian.....	55
4.3.1 Variabel Bebas.....	55
4.3.2 Variabel Tergantung .....	55
4.3.3 Variabel Moderator.....	56
4.3.4 Definisi Operasional Variabel .....	56
4.4 Rancangan Analisis Statistik .....	57
4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian .....	57
4.5.1 Paparan OHB .....	57
4.5.2 Pengukuran Kadar Hsp 70 .....	57
4.5.3 Pengukuran Kadar TNF- $\alpha$ .....	58
4.5.4 Pengukuran Kadar SOD.....	58
4.5.5 Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	59
4.6 Lokasi Penelitian .....	60
4.7 Prosedur Pengambilan Data.....	60
4.7.1 Prosedur Pemeriksaan.....	60
4.7.2 Teknik Pengukuran Kadar Hsp 70.....	62
4.7.3 Teknik Pengukuran Kadar TNF- $\alpha$ .....	62

4.7.4	Teknik Pengukuran Kadar SOD .....	63
4.7.5	Teknik Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	63
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN .....		66
5.1	Data Variabel Moderator .....	66
5.2	Kondisi Pra (Awal) OHB.....	66
5.2.1	Kondisi Pra OHB Variabel Tergantung.....	66
5.2.2	Kondisi OHB Hari ke 5 Variabel Tergantung .....	67
5.2.3	Kondisi OHB Hari ke 10 Variabel Tergantung .....	69
5.3	Perubahan (Delta/D) Variabel Tergantung.....	70
5.3.1	Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 5.....	70
5.3.2	Perubahan Antara OHB Hari ke 5 dan 10 .....	71
5.3.3	Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 10.....	73
5.4	Analisa Diskriminan Variabel Tergantung .....	74
BAB 6 PEMBAHASAN.....		76
6.1	Kondisi Pra OHB.....	76
6.2	Kondisi OHB Hari ke 5 .....	76
6.2.1	Pemeriksaan Kadar Hsp 70.....	76
6.2.2	Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ .....	78
6.2.3	Pemeriksaan Kadar SOD .....	81
6.2.4	Pemeriksaan Kadar Gula Darah.....	84
6.3	Kondisi OHB Hari ke 10 .....	84
6.4	Hasil Penelitian.....	85

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....	86
7.1    Kesimpulan .....	86
7.2    Saran .....	87
DAFTAR PUSTAKA .....	88
LAMPIRAN .....	94

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus (Tjokroprawiro A, 1994).....	14
Tabel 2.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus (Hendromartono, 1999).....	15
Tabel 2.3 Klasifikasi Genetik DM Tipe 2 (NIDDM) (Foster DW,1998)...	16
Tabel 2.4 Perbedaan secara umum antara tipe IDDM dan NIDDM.....	20
Tabel 2.5 Kriteria diagnosis DM .....	21
Tabel 2.6 Kriteria pengendalian DM ( Hendromartono, 1999 ).....	22
Tabel 2.7 Beberapa obat yang mempengaruhi proses oksidasi fosforilasi	33
Tabel 5.1 Data homogenitas variabel moderator .....	66
Tabel 5.2 Rerata data pra OHB variabel tergantung.....	67
Tabel 5.3 Rerata data OHB hari ke 5.....	68
Tabel 5.4 Rerata data OHB hari ke 10.....	69
Tabel 5.5 Data perubahan variabel tergantung.....	70
Tabel 5.6 Rerata data perubahan antara OHB hari ke 5 dan 10 .....	72
Tabel 5.7 Rerata data perubahan antara pra OHB dan OHB hari ke 10 ....	73
Tabel 5.8 Tabel Fisher' linier .....	74
Tabel 5.9 Pola Diskriminan antara pra OHB dan OHB hari ke 5.....	75

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Ilustrasi Hukum Boyle .....	8
Gambar 2.2 Komplikasi diabet akibat hiperglikemi.....	24
Gambar 2.3 Sistem tansport elektron dalam mitokondria .....	36
Gambar 2.4 Fungsi unfoldase Hsp.....	45
Gambar 2.5 GLUT 4 pada metabolisme glukosa di jaringan otot dan sel adipose.....	48
Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual .....	50
Gambar 4.1 Bagan kerangka penelitian .....	61
Gambar 5.1 Diagram rerata pra OHB variabel tergantung.....	67
Gambar 5.2 Diagram rerata OHB hari ke 5 variabel tergantung.....	68
Gambar 5.3 Diagram rerata OHB hari ke 10 variabel tergantung.....	70
Gambar 5.4 Diagram perubahan pra OHB dan hari ke 5 .....	71
Gambar 5.5 Diagram perubahan antara OHB hari ke 5 dan 10.....	72
Gambar 5.6 Diagram perubahan antara pra OHB dan OHB hari ke 10 .....	74
Gambar 5.7 Pola Diskriminan antara pra OHB dan OHB hari ke 5.....	75
Gambar 6.1 Hsp 70 sebagai anti apoptosis umum.....	77
Gambar 6.2 Hsp 70 menyebabkan sekresi sitokin proinflamasi.....	80

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Jadwal Penelitian.....	94
Lampiran 2 Biaya Penelitian .....	95
Lampiran 3 Ethical Clearance .....	96
Lampiran 4 Formulir Persetujuan Uji Klinik.....	97
Lampiran 5 Data Hasil Penelitian Variabel Moderator .....	98
Lampiran 6 Data Hasil Penelitian Pra OHB .....	99
Lampiran 7 Data Hasil Penelitian OHB Hari ke 5 .....	101
Lampiran 8 Data Hasil Penelitian OHB Hari ke 10 .....	103
Lampiran 9 Data Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 10.....	105
Lampiran 10 Data Perubahan Antara OHB Hari ke 5 dan 10 .....	107
Lampiran 11 Data Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 10.....	109
Lampiran 12 Diagram Batang Pra OHB.....	111
Lampiran 13 Diagram Batang OHB Hari ke 5 .....	112
Lampiran 14 Diagram Batang OHB Hari ke 10 .....	113
Lampiran 15 Data Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 5.....	114
Lampiran 16 Diagram Batang Antara OHB Hari ke 5 dan 10 .....	116
Lampiran 17 Diagram Batang Perubahan Antara Pra OHB dan OHB..... Hari ke 10 .....	117
Lampiran 18 Grafik Perubahan Variabel Tergantung Selama OHB.....	118
Lampiran 19 Pola Diskriminan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 5.....	121
Lampiran 20 Daftar Nama Orang Coba Kelompok Perlakuan dan Kontrol	124
Lampiran 21 Dokumentasi Selama Penelitian.....	129

**DAFTAR SINGKATAN**

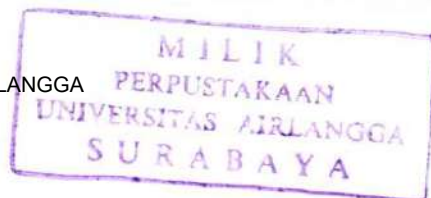
ADP	: Adenosine Diphosphate
AIF	: Apoptosis Inducing Factor
ANT	: Adenine Nukleotida Translokator
Apaf-1	: Apoptotic Protease Activating Factor -1
ATA	: Atmosphere Absolute
ATP	: Adenosine Three Phosphate
ASK	: Apoptosis Signal Regulating Kinase
BB	: Berat Badan
BMI	: Body Mass Index
BP	: Buffer Phosphate
CAT	: Catalase
CD	: Corhn Disease
CoQ	: Coenzim Q
CO <sub>2</sub>	: Carbondioxide
DM	: Diabetes Mellitus
DMF	: Dimethyl Formamide
DNA	: Deoxyribonukleic Acid
EKG	: Elektrokardio Grafi
FADH	: Flavin Adenine Dinucleotide Dehidrogenase
FCPD	: Fibro Calculous Pancreatic DM
GDP	: Gula Darah Puasa

GD 2 JPP	: Gula Darah 2 Jam Post Pandrial
GLP-1	: Glucagon Like Peptide-1
GLUT	: Glucose Transporter
GOD	: Glukosa Oksidase Dehidrogenase
GSH-PX	: Glutathion Peroxidase
GTG	: Gangguan Toleransi Glukosa
HBO	: Hyperbaric Oxygenation
HHNK	: Hyperglycemic Hyperosmolar Non Ketotic
HLA	: Human Leukocyte Antigen
Hsp	: Heat shock protein
IDDM	: Insulin Dependent Diabetes Mellitus
IL	: Interleukin
JNK	: c-Jun N-Terminal Kinase
kD	: kilo Dalton
FK UNBRAW	: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
LPS	: Lipopolisakarida
MODY	: Maturity Onset Diabetes of the Young
NAD	: Nikotinamida Adenine Dinucleotide
NADH	: Nikotinamida Adenine Dinucleotide Dehidrogenase
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
NIDDM	: Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus
NO	: Nitric Oxide
NOS	: Nitric Oxide Synthase



OAD	: Oral Anti Diabetic
OHB	: Oksigen Hiperbarik
PDPD	: Protein Deficient Pancreatic DM
PERKENI	: Perkumpulan Endokrinologi Indonesia
POD	: Peroksidase
RAD	: Reactive Airway Disease
RNA	: Ribonukleic Acid
ROS	: Reactive Oxygen Species
RSAL	: Rumah Sakit Angkatan Laut
RUBT	: Ruang Udara Bertekanan Tinggi
SDH	: Sorbitol Dehidrogenase
SOD	: Superoxide Dismutase
SOR	: Species Oxygen Reactive
TNF- $\alpha$	: Tumour Necrosis Factor-alpha
UV	: Ultra Violet
WHO	: World Health Organization

**BAB 1**  
**PENDAHULUAN**



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit metabolik endokrin kronis yang banyak diderita dan penyakit ini ditandai hiperglikemia dalam darahnya. Hiperglikemia di DM dihubungkan dengan *oxidative stress* yaitu peningkatan produksi radikal bebas yang mendorong iskemia (Packer L, 2000). Hiperglikemia karena sekresi insulin yang menurun yaitu pada penderita *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM) atau berkurangnya aktivitas insulin pada penderita *non insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM) (Oriani, 1996; Foster DW, 1998). Sudah banyak upaya dilakukan untuk memperbaiki kualitas hidup penderita NIDDM, tetapi sampai saat ini belum berhasil secara memuaskan, terbukti semakin tinggi angka kejadian baik di Indonesia maupun dunia. Salah satu upaya yang sudah dilakukan adalah penggunaan terapi oksigen hiperbarik (OHB).

Terapi OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa selama 10 hari telah digunakan sebagai terapi DM di LAKESLA dan terbukti menurunkan kadar gula darah (Mujiono T, 2000; Wijayanto H, 2000) dan terapi 20 kali berturut-turut selama 20 hari terbukti memperbaiki klinis penderita DM dengan komplikasi neuropati diabetik (Utari D, 2006). Terapi OHB dilaporkan meningkatkan produksi radikal bebas di mitokondria (Jain, 1999; Kindwall, 1999). Pada terapi OHB terjadi peningkatan senyawa oksigen reaktif

(SOR) (Thom, 1994; Thibaut, 1996). SOR yang meningkat akan memicu sintesis sekelompok protein yang dikenal sebagai *heat shock protein* (Hsp) yang akan melindungi sel terhadap stres dan kerusakan lebih lanjut (Albar Z, 2002 ; Rosdiana N, 2002). Hsp akan menyebabkan peningkatan *anti-tumour immunity* dan sekresi *pro-inflammatory cytokine* salah satunya *tumour necrosis factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) dari monosit (Pockley G, 2001; Fedoroff N, 2006). Penurunan TNF- $\alpha$  mengakibatkan perbaikan resistensi insulin, meningkatkan ambilan glukosa dan perbaikan translokasi *glucose transporter 4* (GLUT 4) (Merentek, 2006). Gula darah menjadi normal sehingga dapat mencegah peningkatan SOR secara berlebihan. Penurunan radikal bebas akan memperbaiki transduksi sinyal di mitokondria (Widodo, 2003). Peneliti lain melaporkan pada jaringan iskemia, paparan OHB akan mencegah kerusakan jaringan akibat jejas iskemi-reperfusi, baik melalui penghambatan vasokonstriksi di tingkat mikrosirkulasi maupun mencegah perlekatan neutrofil di endotel pembuluh darah, sehingga dapat mencegah peningkatan SOR (Zamboni W, 1994). Terjadi peningkatan antioksidan pada hari ke 3 terapi OHB 2,4 ATA 100% 3x30 menit pada lansia (Satria, 2001). Terapi OHB dosis tertentu juga dilaporkan meningkatkan aktifitas enzim antioksidan yang merupakan mobilisasi sistem pertahanan tubuh pada tingkat respon adekuat (Jain, 1996). Antioksidan mempunyai peran sangat penting yaitu melindungi atau meredam efek toksik radikal bebas di mitokondria (Harman, 1984). Namun sampai saat ini peningkatan aktifitas antioksidan dan penurunan kadar gula darah pada penderita DM tipe 2 yang mendapat terapi OHB 2,4 *atmosphere absolute* (ATA) 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup

udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari tersebut di atas belum diketahui.

Secara teori penggunaan terapi OHB tersebut di atas dapat menimbulkan peningkatan radikal bebas yang merusak mitokondria sebagai penghasil *adenosine three phosphate* (ATP). Hal tersebut akan menyebabkan peningkatan kebutuhan terhadap antioksidan untuk menetralsasi radikal bebas di mitokondria. Apabila antioksidan tidak mencukupi kebutuhan tersebut maka akan menyebabkan gangguan fungsi mitokondria. Berbagai proses fisiologis yang membutuhkan ATP akan terganggu, misalnya gangguan proses enzimatik dalam sel, gangguan transduksi sinyal serta gangguan glikolisis, bahkan pada proses selanjutnya dapat menyebabkan kematian sel (Widodo, 2003). Pada tahun 2002 Delsite melaporkan bahwa mitokondria merupakan kunci penting dalam pengaturan program kematian sel. Radikal bebas yang berlebihan dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan berbagai penyakit (Young, 2001). Senyawa radikal bebas yang berlebihan dapat merusak tiga komponen utama penyusun sel, lemak membran, protein dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang mengakibatkan perubahan fungsi sel dan kerusakan jaringan (Olivera, 2004). Hasil penelitian ini diharapkan dapat lebih meyakinkan bahwa terapi OHB tersebut dapat menurunkan kadar gula darah dan tidak menimbulkan efek yang merugikan.

Terapi OHB dapat meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin (Kakhanovskii, 1981; Kindwall, 1996; Ishihara A, 2007). Shafer (1992) melaporkan bahwa OHB pada tekanan 2,4 ATA menimbulkan reaksi hipoglikemia pada penderita DM. Price (1995), mengungkapkan penggunaan

terapi OHB pada 2,36 ATA menimbulkan penurunan kadar glukosa darah. Terapi OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> dapat menurunkan kadar gula darah dan peningkatan insulin darah (Mudjiono T, 2000). Terjadi perbaikan penderita DM yang ditandai penurunan kadar HbA1c pada DM yang diterapi OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 2x5 hari berturut-turut diselingi istirahat 1 minggu (Wijayanto, 2000). Dari semua penelitian tersebut menyebutkan bahwa OHB memang bermanfaat bagi penderita DM.

Penggunaan OHB pada penderita NIDDM telah banyak dilakukan. Mengingat NIDDM merupakan penyakit metabolik kronis maka diperlukan perawatan yang berkelanjutan. Yang menjadi perhatian pada terapi ini adalah besar tekanan, lamanya pemakaian dan frekuensi penggunaan OHB. Untuk mendapatkan hasil yang diharapkan tanpa menimbulkan efek samping yang merugikan harus dilakukan berbagai penelitian. Lebih lanjut dikatakan bahwa pemberian OHB pada tekanan 2-3 ATA tidak menyebabkan keracunan oksigen dan tidak terjadi peningkatan radikal bebas, karena dapat menstimulasi antioksidan (Ansari, 1986; Harabin, 1990). Efek toksik oksigen tidak diamati pada manusia jika pemberian tidak melebihi 90 menit dan tekanan tidak melebihi 2,5 ATA (Baiborodov, 1996). Maka dari uraian di atas diharapkan bahwa penggunaan OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari terjadi peningkatan aktivitas antioksidan *superoxide dismutase* (SOD) dan penurunan kadar gula darah pada DM tipe 2 dapat dijelaskan.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah ada perbedaan perubahan penggunaan sebelum terapi OHB, OHB hari ke 5 dan OHB hari ke 10 pada dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari terhadap peningkatan aktivitas antioksidan, peningkatan Hsp 70, penurunan TNF- $\alpha$  dan penurunan kadar gula darah pada penderita DM tipe 2?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Penelitian bertujuan untuk membuktikan bahwa penggunaan terapi OHB pada dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada penderita DM tipe 2.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Penelitian bertujuan untuk :

1. Membuktikan perbedaan perubahan kadar Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah sebelum terapi OHB, OHB hari ke 5 dan OHB hari ke 10 pada dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari
2. Mendapatkan pola diskriminan untuk memperoleh penjelasan efek OHB terhadap peningkatan aktivitas SOD.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat :

1.4.1 Membuktikan secara empiris bahwa OHB pada dosis terapi yang aman dapat meningkatkan kualitas penderita DM tipe 2 yang dicerminkan oleh :

1. Peningkatan Hsp 70.
2. Penurunan TNF- $\alpha$ .
3. Penurunan kadar gula darah.
4. Peningkatan aktivitas SOD.

1.4.2 Digunakan sebagai dasar terapi selanjutnya pada penderita DM tipe 2.



**BAB 2**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Oksigen Hiperbarik

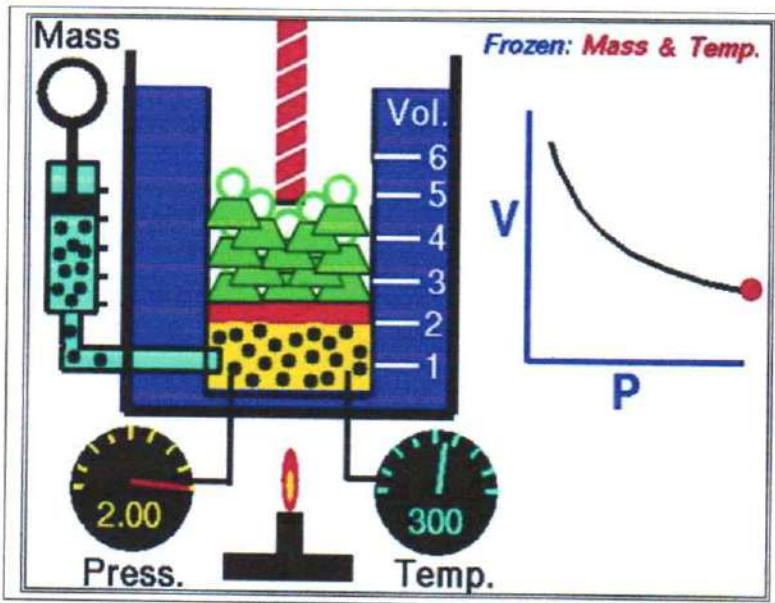
Kondisi hiperbarik adalah suatu kondisi lingkungan dengan tekanan udara atau gravitasi yang lebih besar dibandingkan dengan tekanan didalam jaringan tubuh (1 ATA). Keadaan ini dapat dialami oleh seseorang pada waktu menyelam dan berada di ruang udara bertekanan tinggi (RUBT) atau *hyperbaric chamber*. Terapi oksigen hiperbarik (OHB) adalah pemberian oksigen murni bertekanan tinggi untuk pengobatan, yang dilaksanakan dalam RUBT, dan tekanan yang dianjurkan antara 2-3 ATA. Tekanan yang diberikan tidak boleh melebihi 3 ATA, karena dapat menimbulkan gejala neurologi seperti kejang dan kehilangan kesadaran akibat dari keracunan oksigen (Jain, 1996 ; Oriani, 1996).

##### 2.1.1 Aspek Fisika

Atmosfer terdiri dari campuran gas 20,94% O<sub>2</sub>, 78,08% N<sub>2</sub>, 0,04% CO<sub>2</sub> dan sebagian kecil gas lain. Praktisnya, komposisi udara disederhanakan menjadi 21% O<sub>2</sub> dan 79% N<sub>2</sub>. Tekanan total gas campuran pada permukaan laut adalah 760 mmHg (Jain, 1996, Oriani, 1996).

Hukum yang berkaitan dengan aspek fisika gas hiperbarik :

Hukum Boyle, mengatakan bahwa bila temperatur dipertahankan konstan, volume gas berbanding terbalik dengan tekanan. Volume gas menurun dengan peningkatan tekanan dan naik dengan penurunan tekanan.



Gambar 1.1. Ilustrasi Hukum Boyle (Ishihara A,2007)

Hukum Charles, menyatakan bahwa bila volume gas dipertahankan tetap, tekanan gas berhubungan langsung dengan temperaturnya.

Hukum Dalton, dalam percobaan yang dilakukan menyatakan bahwa tekanan campuran (*total pressure*) dua gas atau lebih yang berada dalam suatu ruang sama dengan jumlah tekanan gas (*partial pressure*) masing-masing yang ada dalam ruang tersebut.

Hukum Henry, yang menyatakan bahwa banyaknya gas yang larut dalam cairan berbanding lurus dengan tekanan gas dan koefisien kelarutan gas tersebut. Koefisien kelarutan berbeda pada tiap jenis cairan dan tergantung dari temperatur, yaitu kelarutan berbanding terbalik terhadap temperatur.

Kelarutan gas respirasi pada temperatur tubuh adalah :

O<sub>2</sub> : 0,024 ml O<sub>2</sub>/ml darah/atm pO<sub>2</sub>,

CO<sub>2</sub> : 0,5 ml/ml plasma/atm pCO<sub>2</sub>,

Nitrogen : 0,067 ml/ml plasma/atm pN<sub>2</sub> (Jain, 1996; Oriani, 1996; Mahdi dkk,1999).

### 2.1.2 Aspek Fisiologis

Pertukaran gas respirasi terjadi melalui beberapa tahapan (Jain, 1996 ; Mahdi dkk, 1999).

#### 1. Fase Respirasi

##### A. Fase ventilasi

Fase ini merupakan fase penghubung antara fase transportasi dan lingkungan gas diluar. Fungsi saluran pernafasan untuk memberi O<sub>2</sub> dan membuang CO<sub>2</sub> yang tidak perlu dalam proses metabolisme. Gangguan yang terjadi dalam fase ini menyebabkan hipoksia jaringan. Gangguan tersebut antara lain gangguan membran alveoli atelektasis. Penambahan ruang rugi, tidak seimbang ventilasi alveolar dan perfusi kapiler paru-paru.

##### B. Fase transportasi

Fase ini merupakan penghubung antara lingkungan luar dengan organ-organ (sel dan jaringan). Fungsinya adalah menyediakan gas yang dibutuhkan dan membuang gas yang dihasilkan oleh proses metabolisme. Gangguan dapat terjadi pada aliran darah lokal atau umum, hemoglobin, "shunt" anatomis atau fisiologis. Hal ini dapat diatasi dengan merubah tekanan gas di saluran pernafasan.

### C. Fase utilisasi

Pada fase utilisasi terjadi metabolisme seluler. Fase ini dapat terganggu apabila terjadi gangguan baik fase ventilasi maupun fase transportasi. Gangguan ini dapat diatasi dengan OHB, kecuali gangguan ini disebabkan oleh pengaruh biokimia, enzim, cacat atau keracunan.

### D. Fase difusi

Fase ini sebenarnya adalah pembatas fisik antara ketiga fase tersebut diatas dan dianggap pasif. Namun gangguan pada pembatas ini dapat mempengaruhi pertukaran gas.

## 2. Transport dan Utilisasi Oksigen

### A. Efek kelarutan oksigen pada plasma

Pada tekanan barometer normal,  $O_2$  yang larut dalam plasma sangat sedikit. Namun pada tekanan oksigen yang aman 3 ATA, dimana  $PO_2$  arterial mencapai  $\pm 2000$  mmHg, tekanan  $O_2$  meningkat 10 sampai 13 kali dari normal dalam plasma. Oksigen yang larut dalam plasma sebesar  $\pm 6$  vol % ( 6 ml  $O_2$  per 100 ml plasma) yang cukup untuk memberi hidup meskipun tidak ada darah " *life without blood*".

### B. Hemoglobin (Hb)

Satu gram Hb dapat mengikat 1,34 ml  $O_2$ , sedangkan konsentrasi normal dari Hb adalah  $\pm 15$  gram per 100 ml darah. Bila saturasi Hb 100% maka 100 ml darah dapat mengangkut 20,1 ml  $O_2$  yang terikat pada Hb (20,1 vol %). Pada tekanan normal setinggi permukaan laut, dimana  $PO_2$  alveoler dan arterial  $\pm 100$  mmHg, maka saturasi Hb dengan  $O_2$   $\pm 97$  % dimana kadar  $O_2$  dalam darah adalah

19,5 vol %. Saturasi Hb akan mencapai 100 % pada  $PO_2$  arterial antara 100-200 mmHg tidak akan meningkatkan kemampuan Hb untuk mengangkut  $O_2$ .

#### C. Utilisasi $O_2$

Utilisasi  $O_2$  rata-rata tubuh manusia dapat diketahui dengan mengukur perbedaan antara jumlah  $O_2$  yang ada dalam darah arterial waktu meninggalkan paru dan jumlah  $O_2$  yang ada dalam darah vena di arteria pulmonalis. Darah arterial mengandung  $\pm 20$  vol % oksigen, sedangkan darah vena mengandung  $\pm 14$  vol % oksigen, sehingga  $\pm 6$  vol % oksigen yang dipakai oleh jaringan. Dengan curah jantung sebesar 5 liter per menit, maka konsumsi jaringan adalah  $\pm 300$  ml per menit. Setiap jaringan mempunyai konsumsi  $O_2$  tertentu yang berbeda satu dengan yang lain, tetapi konsumsi sebesar 6 vol % dapat dianggap kebutuhan rata-rata.

#### D. Efek Kardiovaskuler

Pada manusia OHB menyebabkan penurunan curah jantung sebesar 10-20 % yang disebabkan terjadi bradikardia dan penurunan isi sekuncup. Tekanan darah pada umumnya tidak mengalami perubahan selama pemberian OHB.

Pada jaringan yang normal terjadi vasokonstriksi yang disebabkan karena  $nPO_2$  arterial yang meningkat. Efek vasokonstriksi ini kelihatan merugikan, namun perlu diingat bahwa pada  $PO_2 \pm 2000$  mmHg, oksigen yang tersedia dalam tubuh adalah 2 kali lebih besar dari biasanya.

## 2.2 Diabetes Mellitus

### 2.2.1 Batasan Diabetes Mellitus

Penyakit DM merupakan penyakit dimana tubuh penderita tidak bisa secara otomatis mengendalikan tingkat gula (glukosa) dalam darahnya. Penderita DM tidak bisa memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup, sehingga terjadi kelebihan gula di dalam tubuh. Kelebihan gula yang kronis di dalam darah (hiperglikemia) ini menjadi racun bagi tubuh (Octa, 2006).

Penyakit DM merupakan penyakit endokrin yang mempunyai karakteristik abnormalitas metabolik pada komplikasi jangka panjang yang mengenai organ tubuh seperti mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah. Diagnosis penyakit DM berdasarkan gejala dan simptom diuresis osmotik, hiperglikemia (Foster DW, 1998).

Penyakit DM disebut juga penyakit gula atau kencing manis merupakan manifestasi dari kadar gula tinggi di dalam tubuh yang mempunyai gejala klinis banyak kencing (*poliuria*), sering haus (*polidipsia*), sering lapar (*polifagia*), melemahnya kondisi badan, cepat lelah, berat badan menurun, gatal-gatal, infeksi yang sukar sembuh (eksim, borok) dan kesemutan (Waspadji S, 1996).

Penyakit DM merupakan penyakit metabolik yang kebanyakan hereditas, dengan tanda hiperglikemia dan glukosuria, disertai dengan atau tidak adanya gejala klinik akut ataupun kronik, sebagai akibat kekurangan insulin efektif di dalam tubuh. Gangguan primer terletak pada metabolisme karbohidrat, yang sering disertai juga dengan gangguan metabolisme lemak dan protein (Tjokroprawiro A, 1994).



### 2.2.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Sesuai klasifikasi WHO, kadar glukosa plasma normal jika kadar glukosa plasma puasa  $< 110$  mg/dl, glukosa plasma terganggu jika kadar glukosa puasa antara 110-125 mg/dl sedangkan toleransi glukosa terganggu adalah kadar glukosa darah sesudah pembebanan glukosa 75 g antara 140-199 mg/dl. Disebut diabetes jika kadar gula darah puasa  $> 126$  mg/dl, atau bila kadar glukosa darah sesudah pembebanan glukosa 75 g  $> 200$  mg/dl (Merentek E, 2006).

Klasifikasi DM dan gangguan toleransi glukosa menurut para ahli Diabetes WHO di Geneva tahun 1985 selengkapnya pada tabel 2.1.



Tabel 2.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus (Tjokroprawiro A, 1994)

A. *Clinical Classes*

I. Diabetes Mellitus

- a. IDDM / tipe 1 (*autoimmune dan idiopatic*)
- b. NIDDM / tipe 2
- c. Bila meragukan tipe 1 atau 2 (*Questionable DM*). *Malnutrition Related DM* :
  - 1. *FCPD (Fibrocalculous Pancreatic DM)*
  - 2. *PDPD (Protein Deficient Pancreatic DM)*
- d. *Other type of DM*
  - 1. *Pancreatic disease*
  - 2. *Disease of hormonal etiology*
  - 3. *Drug or chemical induced DM*
  - 4. *Abnormalitas of insulin or its receptors*
  - 5. *Certain genetic syndromes*
  - 6. *Abnormal insulin molekul*

II. *Impaired Glucose Tolerance (GTG = DM chemical = DM laten)*

- a. *Non-obese*
- b. *Obese*
- c. Tergantung pada kondisi dan sindrom.

III. *Gestational DM (DM hanya pada waktu hamil saja)*

B. *Statistical Risk Classes*

Yang dimaksud kelas ini adalah semua orang yang mempunyai toleransi glukosa yang normal, tetapi mempunyai resiko mengidap penyakit DM, misalnya :

- a. Pernah mengalami gangguan toleransi glukosa di masa lampau.
- b. Kedua orang tua mengidap penyakit DM.
- c. Pernah melahirkan bayi dengan berat badan lahir lebih dari 4 kg.

Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan mengenai penyakit DM maka klasifikasi tersebut dirubah sesuai anjuran *American Diabetes Association* (ADA) 1997 yang digunakan PERKENI 1998. Selengkapnya pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus (Hendromartono, 1999)

1. Diabetes Mellitus tipe 1 ( autoimmun dan idiopatik)
2. Diabetes Mellitus tipe 2
3. Diabetes Mellitus tipe lain :
  - A. Defek genetik fungsi sel beta
    - a. *MODY* (*Maturity Onset Diabetes of the Young*)
    - b. DNA mitokondria
  - B. Defek genetik kerja insulin
  - C. Penyakit eksokrin pankreas
    - a. Pankreatitis
    - b. Tumor / pankreatektomi
    - c. Pankreatopati fibrokalkulus
  - D. Endokrinopati
    - a. Akromegali
    - b. Sindroma Chusing
    - c. Feokromositoma
    - d. Hipertiroidisme
  - E. Obat dan zat kimia
    - a. Vacor, pentamidin, asam nikotinat
    - b. Glukokortikoid, hormon tiroid
    - c. Tiazid, Dilantin, Interferon alfa

Tabel 2.3 Klasifikasi Genetik DM Tipe 2 (NIDDM) (Foster DW,1998)

- |   |
|---|
| <p>I. <i>Genetically characterized forms of NIDDM</i></p> <p>A. <i>Maturity-onset diabetes of the young (MODY)</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>MODY 1-linked to chromosome 20q</i></li> <li>2. <i>MODY 2-linked to glucokinase (7p13-15)</i></li> <li>3. <i>MODY 3-linked to chromosome 12q</i></li> <li>4. <i>Others</i></li> </ol> <p>B. <i>Defects in the insulin gene (11p15)</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Familial hyperproinsulinemia</i></li> <li>2. <i>Mutant insulin molecules</i></li> </ol> <p>C. <i>Defects in the insulin receptor (10p13)</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Leprechaunism</i></li> <li>2. <i>Type A syndrome of insulin resistance</i></li> <li>3. <i>Rabson-Mendenhall syndrome</i></li> </ol> <p>D. <i>Mutation in mitochondrial gene for tRNA</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Maternally inherited diabetes with neurosensory deafness</i></li> <li>2. <i>MELAS Syndrome</i></li> </ol> <p>E. <i>Mutation in GLUT 2 glucose transporter (3q26) (one case only)</i></p> <p>II. <i>Genes involved in ordinarily NIDDM</i></p> <p>A. <i>Genes with some evidence for involvement</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>HLA locus-DR4 (6p21-23)-in elderly persons with NIDDM only</i></li> <li>2. <i>Glucagon receptor gene (17q25)</i></li> <li>3. <i>Insulin receptor substrate-1 (2q76)</i></li> <li>4. <i>Glycogen synthase (19q13)</i></li> <li>5. <i>Intestinal fatty acid-binding proteins (4q)</i></li> <li>6. <i>RAD (2q3637)</i></li> </ol> <p>B. <i>Genes for which significant involvement has been ruled out</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Insulin gene 11p15)</i></li> <li>2. <i>MODY genes (20q, 7p, 12q)</i></li> <li>3. <i>ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel (21q22)</i></li> <li>4. <i>Glucagon like peptide-1 (GLP-1) receptor (6p21)</i></li> <li>5. <i>GLUT 2 (3q36)</i></li> <li>6. <i>GLUT 4 (17p13)</i></li> <li>7. <i>Insulin receptor (19p13)</i></li> </ol> |
|---|

### 2.2.3 Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2 (NIDDM)

DM tipe 2 merupakan suatu kelompok penyakit metabolik yang disifati oleh hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin oleh sel beta pankreas, gangguan kerja insulin (resistensi insulin) atau keduanya.

Secara normal insulin dihasilkan oleh sel pankreas. Dalam keadaan sehat pankreas secara spontan akan memproduksi insulin saat gula darah tinggi. Prosesnya sebagai berikut : jika kadar gula darah rendah, glukagon akan dibebaskan oleh sel alfa pankreas, kemudian hati akan melepaskan gula ke darah yang mengakibatkan kadar gula darah normal. Sebaliknya jika kadar gula darah tinggi, insulin akan dibebaskan oleh sel beta pankreas, kemudian sel lemak akan mengikat gula darah, yang mengakibatkan gula darah normal (Witarto, 2005).

Sekresi insulin pada orang non diabetes meliputi 2 fase yaitu fase dini (fase 1) atau *early peak* yang terjadi dalam 3-10 menit pertama setelah makan. Insulin yang disekresi pada fase ini adalah insulin yang disimpan dalam sel beta (siap pakai), dan fase lanjut (fase 2) adalah sekresi insulin dimulai 20 menit setelah stimulasi glukosa. Pada fase 1, pemberian glukosa akan meningkatkan sekresi insulin untuk mencegah kenaikan kadar glukosa darah, dan kenaikan glukosa darah selanjutnya akan merangsang fase 2 untuk meningkatkan produksi insulin. Makin tinggi kadar glukosa darah sesudah makan makin banyak pula insulin yang dibutuhkan, akan tetapi kemampuan ini hanya terbatas pada kadar glukosa darah dalam batas normal.

Pada NIDDM, sekresi insulin di fase 1 tidak dapat menurunkan glukosa darah sehingga merangsang fase 2 untuk menghasilkan insulin lebih banyak,

tetapi sudah tidak mampu meningkatkan sekresi insulin sebagaimana pada orang normal. Gangguan sekresi sel beta menyebabkan sekresi insulin pada fase 1 tertekan, kadar insulin dalam darah turun menyebabkan produksi glukosa oleh hati meningkat, sehingga kadar glukosa darah puasa meningkat. Secara berangsur-angsur kemampuan fase 2 untuk menghasilkan insulin menurun. Dengan demikian perjalanan NIDDM dimulai dengan gangguan fase 1 yang menyebabkan hiperglikemia dan selanjutnya gangguan fase 2 dimana tidak terjadi hiperinsulinemia akan tetapi gangguan sel beta.

Resistensi insulin berarti ketidakanggapan insulin memberi efek biologik yang normal pada kadar gula darah tertentu. Dikatakan resisten insulin bila dibutuhkan kadar insulin yang lebih banyak untuk mencapai kadar gula darah yang normal. Gangguan resistensi insulin pada otot rangka dapat disebabkan oleh gangguan pada *pre receptor*, *receptor* dan *post receptor*. Gangguan pada *pre reseptor* dapat disebabkan oleh antibodi insulin dan gangguan pada insulin. Gangguan reseptor dapat disebabkan oleh jumlah reseptor yang kurang atau kepekaan reseptor yang menurun. Sedangkan gangguan *post reseptor* disebabkan oleh gangguan proses fosforilasi dan pada transduksi sinyal di dalam sel otot. Daerah utama terjadinya resistensi insulin adalah pada *post reseptor* sel target di jaringan otot rangka dan sel hati (Merentek E, 2006).

NIDDM pada umumnya mempunyai latar belakang resistensi insulin. Pada awalnya resistensi insulin belum menyebabkan diabetes klinis. Sel beta pankreas masih dapat mengkompensasi, sehingga terjadi hiperinsulinemia, kadar glukosa darah masih normal atau sedikit meningkat. Kemudian jika telah terjadi kelelahan

sel beta pankreas, baru timbul diabetes mellitus klinis, yang ditandai kalium akan meninggalkan sel beta (*K-efflux*), dengan demikian mempertahankan potensial membran dalam keadaan hiperpolar sehingga *Ca-channels* tertutup, sehingga kalsium tidak dapat masuk ke dalam sel beta sehingga perangsangan sel beta untuk mensekresi insulin menurun. Sebaliknya pada keadaan setelah makan kadar glukosa glukokinase disebut sebagai *glucose sensor* karena bertindak sebagai sensor terhadap glukosa.

Peningkatan sekresi insulin akibat resistensi insulin dalam jangka waktu yang lama merangsang terbentuknya amiloid pada pulau di pankreas. Akumulasi amiloid pada pankreas dalam jangka waktu yang lama menyebabkan penurunan produksi insulin sehingga sekresi insulin menurun dan pada pemeriksaan kadar insulin plasma terjadi hipoinsulinemia (Foster DW, 1998). Pada saat kadar insulin puasa dalam darah menurun maka efek penekanan insulin terhadap produksi glukosa hati khususnya disebabkan oleh gangguan pada proses fosforilasi dan pada transduksi sinyal di dalam sel otot. Daerah utama terjadinya resistensi insulin adalah pada *post receptor* sel target di jaringan otot rangka dan sel hati. Kerusakan *post receptor* ini menyebabkan kompensasi peningkatan sekresi insulin oleh sel beta, sehingga terjadi hiperinsulinemia pada keadaan puasa maupun *post prandial* (Merentek E, 2006).

Umumnya penderita NIDDM mempunyai kelebihan berat badan atau kegemukan (Prager, 1998; Foster DW, 1998; Lebovitz, 1999), dan kegemukan inilah yang diduga menyebabkan resistensi insulin (Lebovits, 1999), hal ini berhubungan dengan adanya gangguan ambilan glukosa dan sintesis glikogen.

Selain itu resistensi insulin ini juga berhubungan dengan terjadinya penurunan jumlah reseptor insulin, lebih lanjut menyatakan tidak selalu orang gemuk menderita NIDDM, karena dijumpai juga penderita NIDDM yang tidak mengalami kegemukan (Foster DW, 1998). NIDDM umumnya juga dijumpai pada usia 40 tahun atau lebih dan menurut (Foster DW,1998) NIDDM juga bersifat genetik tetapi sampai saat ini pola penurunannya belum jelas.

Secara umum perbedaan ke 2 tipe DM dapat dilihat pada table 2.4.

Tabel 2.4. : Perbedaan secara umum antara tipe IDDM dan NIDDM

(Calia, 1996; Foster DW, 1998)

Karakteristik	IDDM	NIDDM
Genetik	Kromosom 6	Tidak diketahui
Umur (tahun)	Umumnya sebelum 40	Lebih dari 40
Berat badan	Normal / kurus	Umumnya gemuk
Insulin plasma	Hipoinsulin	Normal/hiperinsulin
Komplikasi akut	Ketoasidosis	Koma hiperosmolar
Terapi sulfonylurea	Tidak responsif	Responsif
Autoimun	Terlibat	Tidak terlibat

#### 2.2.4 Kriteria Diagnosis

Kriteria diagnosis DM dan gangguan toleransi glukosa menurut ahli diabetes di Surabaya tahun 1987 merupakan modifikasi dari kriteria diagnosis DM yang ditetapkan WHO tahun 1985 (darah kapiler, metode enzimatik, beban glukosa 75 gram, puasa minimal 10 jam) tercantum pada tabel 2.5.

Tabel 2.5 : Kriteria diagnosis DM

- I. Diagnosis DM apabila :
  - a. Terdapat gejala-gejala DM ditambah dengan
  - b. Salah satu dari : GDP 120 mg/dl, 2 jam PP 200 mg/dl, atau glukosa darah acak >200mg/dl
- II. Diagnosis DM apabila :
  - a. Tidak terdapat gejala-gejala DM, tetapi
  - b. Terdapat 2 hasil dari : GDP 120mg/dl, 2 jam PP 200 mg/dl atau random 200 mg/dl
- III. Diagnosis gangguan toleransi glukosa (GTG) apabila  
GDP <120mg/dl dan dan 2 jam PP 140 - 200 mg/dl
- IV. Untuk kasus meragukan dengan hasil GDP <120 mg/dl dan 2 jam PP >200 mg/dl  
maka ulangi pemeriksaan laboratorium sekali lagi, dengan persiapan minimal 3 hari dengan diet karbohidrat lebih dari 150 gram per hari dan kegiatan fisik seperti biasa, kemungkinan hasilnya adalah :
  - a. DM, apabila hasilnya sama atau tetap, yaitu GDP <120 mg/dl dan 2 jam PP 200 mg/dl, atau apabila hasilnya memenuhi kriteria I dan II
  - b. GTG, apabila hasilnya cocok dengan kriteria III



### 2.2.5 Kriteria Pengendalian Diabetes Mellitus

DM terkendali dengan baik artinya kadar glukosa darah puasa, 2 jam PP, HbA1c dan tekanan darah dalam batas normal (Hendromartono, 1999).

Tabel 2.6 : Kriteria pengendalian DM (Hendromartono, 1999)

Pemeriksaan glukosa darah plasma vena ( mg/dl )	B aik	Sedang	Buruk
Puasa	80 – 109	110 – 139	140
2 jam PP	110 - 159	160 – 199	> 200
HbA1c %	4 – 6	6 – 8	> 8
Tekanan darah	< 140/90	< 160/95	> 160/95

### 2.2.6 Prevalensi dan Komplikasi Diabetes Mellitus

Berdasarkan estimasi Mc Carty and Zimt (1994) yang diperlengkapi dengan data Tattersal (1996) dapat diperkirakan jumlah penderita DM di dunia. Dari 1994 sampai 2020, jumlah penderita DM di seluruh dunia berturut-turut: tahun 1994 (110,4 juta); tahun 2000 (175,4 juta)  $\pm$  1,5 kali tahun 1994; tahun 2010 (279,3 juta)  $\pm$  2 kali tahun 1994 : dan tahun 2020 (300 juta)  $\pm$  3 kali tahun 1994. Sedangkan Indonesia menempati urutan keenam di dunia sebagai negara dengan jumlah penderita DM terbanyak setelah India, China, Uni Sovyet, Jepang dan Brazil. Di Indonesia prevalensi penderita DM cenderung meningkat sepanjang tahun (Suyono, 1996). Berdasarkan prevalensi  $\pm$  1,5% dapat diperkirakan jumlah DM (minimal) pada 1994 adalah 2,5 juta; 1998 sebanyak 3,5

juta ; tahun 2000 sebanyak 4 juta ; tahun 2010 sebanyak 5 juta ; dan pada 2020 sebanyak 6,5 juta (Tjokroprawiro A, 1994, 1997). Hal ini dapat diartikan bahwa penderita DM di Indonesia mencapai kurang lebih 2% dari penderita DM dunia.

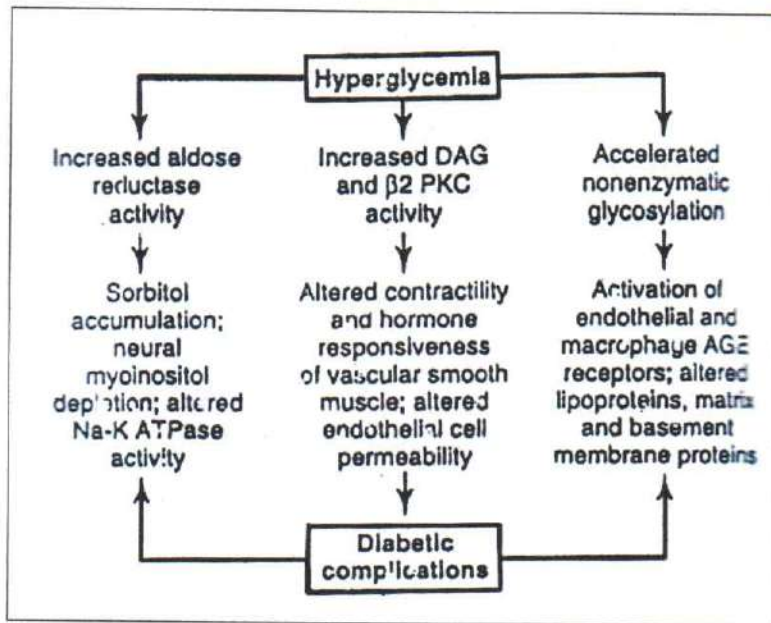
Tjokroprawiro A (2000) melaporkan tiga komplikasi menahun DM tersering adalah dislipidemia (67,0%), neuropati diabetic simptomatik 51,4% dan disfungsi ereksi/impotensi (50,9). NIDDM dapat menimbulkan beberapa komplikasi :

1. Komplikasi jangka pendek :

- A. *Hypoglycemia* (kadar glukosa darah rendah)
- B. *Hyperglycemia* (kadar glukosa darah tinggi)
- C. Sindrom *Hyperglycemic Hyperosmolar Non Ketotic* (HHNK), ketidakseimbangan glukosa di darah dan ketidakadekuatan air, kalium dan natrium

2. Komplikasi jangka panjang :

- A. Hipertensi
- B. Dislipidemia (peningkatan kadar kolesterol dan trigliserida darah)
- C. Komplikasi vaskuler
- D. Komplikasi *neuropathy*
- E. *Nephropathy* (ginjal)
- F. Komplikasi *ophthalmic* (mata)



Gambar 2.2 Komplikasi DM akibat hiperglikemi (Foster D.W, 1998)

Sintesis *nitric oxide* (NO) oleh endotel vaskuler bertanggung jawab terhadap tonus vasodilator yang penting untuk pengaturan tekanan darah. Di perifer terdapat jaringan kerja yang tersebar luas dari saraf, sebelumnya dikenal sebagai nonadrenergik dan nonkolinergik. Beberapa bentuk vasodilatasi neurogenik pada sistem saraf perifer tersebut diperantarai melalui mekanisme yang tergantung NO (Moncada S, 1993).

Lebih lanjut, paparan sel endotel terhadap kondisi hiperglikemi akan meningkatkan pembentukan superoksidanion yang dapat meredam aktivitas NO; NO merupakan suatu *endothel-derived vasodilator* yang kuat, yang mempunyai peran penting dalam homeostasis sistem pembuluh darah. Diduga juga bahwa berbagai faktor yang dikendalikan secara genetik berperan dalam sistem

pertahanan antioksidan. Hal ini terbukti adanya variasi dari daya tahan individu terhadap komplikasi kronik diabetes (Soeatmadji D.W., 1998).

Salah satu efek farmakoterapi OHB yang berkaitan dengan meningkatnya tekanan parsial oksigen dalam plasma adalah memodulasi produksi NO (Guritno M, 2005 A). Thom S dkk, 2003 yang memberikan paparan oksigen tekanan tinggi terhadap hewan coba didapatkan peningkatan bermakna dari kadar *steady-state* NO dan stimulasi terhadap *neuronal nitric oxide synthase* (nNOS)

### 2.3 Radikal Bebas dan Oksidan

Seringkali pengertian oksidan dan radikal bebas dianggap sama karena keduanya memiliki kemiripan sifat. Kemiripan sifat antara radikal bebas dan oksidan terletak pada agresivitas untuk menarik elektron di sekelilingnya. Kedua jenis senyawa ini juga memiliki aktivitas yang sama dan memberikan akibat yang hampir sama meskipun melalui proses yang berbeda. Pemahaman radikal bebas sebagai oksidan memang tidak salah, tetapi perlu diketahui bahwa tidak setiap oksidan merupakan radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan senyawa oksidan non radikal. Hal ini berkaitan dengan reaktivitas senyawa radikal bebas tersebut sangat tinggi, yang mengakibatkan pembentukan senyawa radikal baru. Dalam ilmu kimia, pengertian oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik elektron.

Elektron pada suatu atom menempati daerah ruang yang disebut orbital. Setiap orbital dapat menampung dua elektron, yang bergerak berkeliling

berlawanan arah. Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron yang tak berpasangan (*unpaired electron*). Jadi radikal bebas pasti oksidan tetapi oksidan belum tentu radikal bebas (Winarsi H, 2007).

Pada radikal bebas, elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Jika elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas tersebut bersifat ionik, dampak yang timbul memang tidak begitu berbahaya, tetapi jika elektron yang terikat radikal bebas berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, akan sangat berbahaya karena ikatan digunakan secara bersama-sama pada orbital terluarnya. Umumnya senyawa yang memiliki ikatan kovalen adalah molekul besar (biomakromolekul), seperti lipid, protein maupun DNA (Soeatmadji, 1998).

Radikal bebas dapat memberikan elektron tak berpasangannya (reaksi reduksi) atau mengambil elektron dari molekul lain (reaksi oksidasi). Radikal bebas dapat juga bergabung ke dalam non radikal. Pada proses-proses tersebut non radikal akan menjadi radikal bebas. Reaksi antara radikal bebas dan non radikal ini berlangsung secara berantai, dimana radikal bebas satu menyebabkan terjadinya radikal bebas lain. Reaksi rantai ini baru berhenti bila radikal bebas tersebut dapat diredam. Dari sifatnya yang reaktif tinggi dan cenderung menimbulkan radikal bebas baru, maka radikal bebas memiliki daya perusak yang tinggi (Youngson, 1994; Halliwell, 1999).

Radikal bebas diproduksi secara terus menerus di semua sel sebagai bagian dari fungsi seluler yang normal. Namun, bila diproduksi secara berlebihan baik radikal bebas endogen maupun eksogen dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan memicu berbagai penyakit (Woodside, 2001). Radikal bebas endogen adalah radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh kita, antara lain produk dari proses fisiologis normal seperti fosforilasi oksidatif untuk menghasilkan ATP di mitokondria dan oksigenasi haemoglobin di eritrosit, atau diproduksi sel inflamatori. Sedangkan radikal bebas eksogen adalah radikal bebas yang bersumber dari luar tubuh, antara lain oleh karena polutan, asap rokok, obat-obatan, bahan kimia dan oleh karena ionisasi radiasi (ultraviolet dan X-rays) (Youngson, 1994; Halliwell, 1999).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui 3 tahapan (Winarsi H, 2007) :

1. Tahap inisiasi, yaitu awal pembentukan radikal bebas



2. Tahap propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal

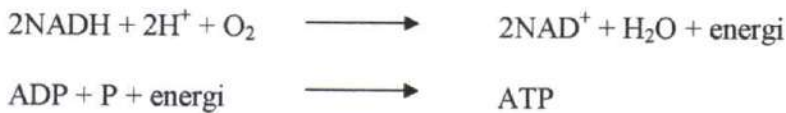


3. Tahap terminasi, yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah.



Pada penelitian mengenai radikal bebas *in vivo*, ditemukan senyawa-senyawa yang tidak memiliki elektron bebas, sehingga tak dapat digolongkan sebagai radikal bebas, namun memiliki kemampuan seperti radikal bebas. Senyawa radikal dan non radikal ini kemudian dinamakan Spesies Oksigen Reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species (ROS)* (Suryohudoyo P, 1995).

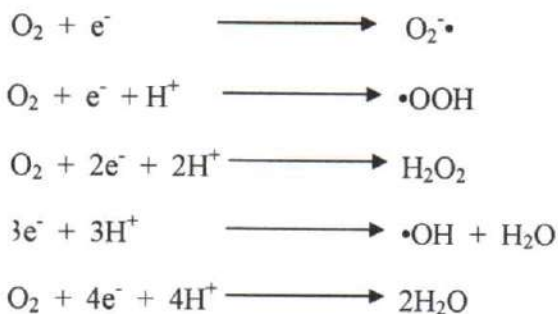
SOR, sesuai namanya berasal dari oksigen ( $O_2$ ), yaitu senyawa yang dibutuhkan oleh semua organisme aerob seperti halnya manusia. Senyawa oksigen ini digunakan organisme aerob untuk menghasilkan energi berupa ATP, melalui proses fosforilasi oksidatif dalam mitokondria, dengan reaksi sebagai berikut



Dalam proses ini, 1 molekul oksigen akan tereduksi menjadi 2 molekul air menurut reaksi sebagai berikut :



Reduksi 1 molekul oksigen menjadi 2 molekul air terjadi dengan memindahkan 4 elektron. Namun dalam keadaan tertentu, proses pemindahan elektron ini tidak terjadi secara sempurna sehingga mengakibatkan senyawa oksigen reaktif. Adapun tahapan pembentukan senyawa oksigen reaktif adalah sebagai berikut :



Dari tahapan reaksi tersebut, tampak bahwa radikal ion superoksida, radikal peroksil, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil terbentuk sebagai akibat pemindahan elektron yang kurang sempurna dalam proses reduksi oksigen (Winarsi H, 2007).

## **2.4 Sintesa ATP dan Proses Kejadian SOR di Mitokondria**

### **2.4.1 Sintesa ATP**

Struktur mitokondria terdiri dari membran lipid bagian luar, ruang antar membran, membran lipid bagian dalam dan matrik mitokondria. Membran mitokondria adalah lipid bilayer, membran bagian luar permeabel terhadap berbagai ion dan bahan makanan. Jumlah mitokondria berbeda antara jenis sel satu dengan sel yang lain, sel yang mempunyai metabolisme yang sangat aktif misalnya sel otot jantung, sel neuron otak, sel ginjal dan sel otot bergaris yang mengandung ratusan sampai ribuan mitokondria per sel. Sel yang secara metabolik tidak aktif hanya mengandung puluhan mitokondria.

Mitokondria merupakan organela sel eukariot yang berfungsi multifaktorial pada kehidupan sel. Mitokondria dikenal sebagai "*the power house of the cell*" mesin penghasil enersi yang mampu mengatur sendiri produksinya. Fungsi utamanya adalah menyediakan ATP yang sangat diperlukan untuk berlangsungnya proses fisiologis sel. Proses sintesa ATP sangat kompleks tergantung pada berbagai faktor antara lain ketersediaan bahan makanan, berbagai protein enzim komplek I sampai dengan V yang berada pada bagian membran mitokondria bagian dalam dan ion kalsium.



Sintesis ATP oleh mitokondria melalui dua proses :

1. Perubahan karbohidrat dan asam lemak melalui *pyruvate dehidrogenase komplek* dan *citric acid cycle* yang menghasilkan ATP (dalam jumlah sedikit) dan ion hydrogen dalam bentuk NADH dan FADH<sub>2</sub> yang kesemuanya terjadi dalam mitokondria dan melibatkan enzim seperti komplek *pyruvat dehidrogenase*, *citrate synthase* dan komplek alfa ketoglutarat dehidrogenase.
2. Rantai respirasi mitokondria atau rantai transport elektron. Proses ini melibatkan ion hydrogen dan oksigen untuk menghasilkan jumlah yang sangat banyak ATP melalui proses yang sangat kompleks dan sangat terkontrol, proses menghasilkan energi melalui oksigen (proses oksidasi fosforilasi).

Penggunaan oksigen pada oksidasi fosforilase ini melibatkan 5 komplek protein yang sangat spesifik yang ada di dalam membran lipid bagian dalam yaitu komplek I sampai dengan V. Komplek I menerima NADH yang menyumbangkan elektron pada rantai respirasi ini. Sebagian energi yang dihasilkan oleh pemindahan elektron ini digunakan untuk memompa ion H dari matrik mitokondria melewati membran bagian dalam menuju ruang antar membran. Sebagian elektron di transfer ke komplek III melalui koenzim Q suatu *electron transfer carrier*. Komplek II menerima elektron dari FADH<sub>2</sub> kemudian melalui koenzim Q ditransfer ke komplek III. Komplek II ini menggunakan sebagian energi dari elektron untuk memompa ion H dari matrik mitokondria ke ruang antar membran. Elektron dari komplek III ditransfer ke komplek IV melalui *electron transfer carrier*, cytochrome C. Energi yang dihasilkan oleh komplek IV digunakan untuk memompa ion H dari matrik ke dalam ruang antar membran.

Schon and Manfredi (2003) menyatakan bahwa kelebihan relatif dari ion H atau proton di dalam ruang antar membran ini akan menciptakan gradient pH dan redoks antara ruang antar membran dengan matrik mitokondria melewati membran mitokondria bagian dalam. Energi yang dihasilkan oleh perbedaan gradient ini digunakan oleh Komplek V (suatu ATP synthase) memompa kembali ion H kedalam matrik mitokondria dan merubaha *adenosine diphosphate* (ADP) menjadi ATP suatu energi kimia yang kemudian di transfer kebagian bagian sel yang memerlukannya (Widodo, 2003).

ATP yang dihasilkan akan ditransport keluar mitokondria oleh *adenine nukleotida translokator* (ANT) ke bagian dalam sel yang membutuhkan. Keberadaan ATP dalam sel sangat penting untuk penyediaan energi untuk aktifitas fisiologi sel misalnya yang dibutuhkan untuk reaksi enzimatik kontraksi otot (*actin myosin ATPase*), berbagai enzim yang diperlukan untuk transport ion-ion keluar masuk sel seperti Ca ATP ase, Na-K ATP ase.

Pada dasarnya ATPase digunakan untuk transport ion yang melawan gradient konsentrasi, suatu proses transport yang membutuhkan energi. Ada beberapa system transport ion yang fungsi utamanya adalah untuk mengembalikan kadar ion kalsium, kadar kalium dan natrium dalam sitoplasma ke konsentrasi pada keadaan istirahat atau konsentrasi basal. Misalnya pemompaan kalsium keluar sel melalui membran sel atau masuknya ion kalsium ke dalam *endoplasmic reticulum*. ATP ase juga digunakan untuk transport aktif ion K ke dalam sel dan ion Na keluar sel, proses ini secara tidak langsung juga diperlukan untuk mengembalikan kadar kalsium pada konsentrasi basal.

#### 2.4.2 Kegagalan sintesis ATP

Sintesis mitokondria melibatkan berbagai kompleks enzim. Apabila terjadi kegagalan fungsi elektron transport pada salah satu kompleks tersebut akan terjadi penurunan atau tidak produksi ATP. Hal ini dapat terjadi apabila secara genetik diturunkan mutasi DNA mitokondria yang mengakibatkan gangguan sintesis ATP. Mutasi DNA mitokondria dapat pula terjadi apabila terdapat radikal bebas yang berlebihan sebagai akibat proses oksfos, atau proses oksfos yang terganggu. Mutasi oleh radikal bebas ini sangat dimungkinkan pada DNA mitokondria oleh karena beberapa hal, antara lain : DNA mitokondria melekat pada membran mitokondria bagian dalam yang mengandung lemak tak jenuh dalam jumlah yang relatif besar. Di membran mitokondria bagian dalam juga merupakan tempat utama generasi ROS. DNA mitokondria dengan 16.569 pasang basa dan berbentuk sirkuler sangat mudah mengalami kerusakan oksidatif, oleh karena tidak mengandung histon yang berfungsi memperbaiki kerusakan DNA oleh karenanya mutasi DNA mitokondria terjadi 17 kali lebih tinggi dibanding DNA inti. Pada proses oksfos selalu diproduksi radikal bebas seperti radikal superoksida, hidrogen peroksida dan hidroksil.

Nicholls and Budd (2000) menyatakan produksi ATP juga dipengaruhi oleh berbagai hal antara lain pada kekurangan oksigen seperti iskemia dan apabila kadar Ca dalam matrik mitokondria sangat meningkat. Beberapa obat yang mempengaruhi proses oksidasi fosforilasi sehingga mempengaruhi sintesa ATP (Widodo, 2003).

Tabel 2.7 Beberapa obat yang mempengaruhi proses oksidasi fosforilasi (Widodo, 2003)

Enzim kompleks	Inhibitor
Komplek I	MPP+ (1 methyl-4-phenylpyridium ) Rotenone
Komplek II	3-NPA (3-nitropropionic acid ) Malonate
Komplek III	Antimycin A Myxathiazol
Komplek IV	Cyanide Azide
Komplek V	Oligomycine

Bennet (1999) menyatakan produksi ATP berkurang ini akan berakibat timbulnya berbagai sindroma penyakit yang digambarkan sebagai gangguan kontraksi otot bergaris, kelainan nerologis, penurunan produksi insulin, gangguan pada sekresi neurotransmitter dan berperan pada sekresi neurotransmitter dan berperan pada berbagai proses neurodegeneratif di otak seperti penyakit Huntington, Alzheimer, Parkinson dan proses menua, selain itu terkait dengan penyakit metabolik diabetes mellitus (Widodo, 2003).

### 2.4.3 Proses Kejadian SOR di Mitokondria

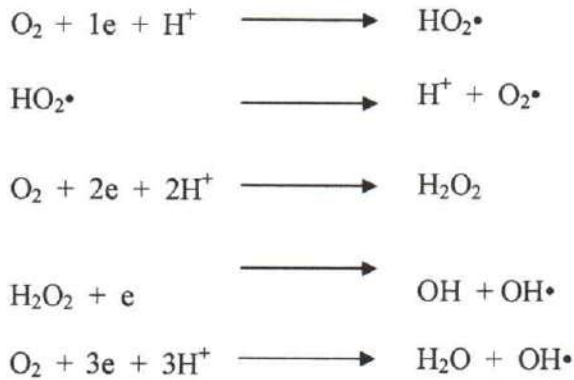
Proses generasi ATP dengan menggunakan oksigen merupakan proses pembentukan energi yang utama dalam organisme aerobik, proses yang juga dikenal sebagai oksidasi fosforilasi. Pada proses oksidasi fosforilasi selalu diproduksi SOR. Pada kadar fisiologis atau rendah SOR ini berperan sebagai transduksi sinyal, namun pada kadar yang berlebih dapat merusak molekul lipid, protein dan basa nukleotida yang ada di dalam maupun luar mitokondria (Widodo, 2003).

Mitokondria secara kuantitatif merupakan tempat produksi utama SOR di dalam sel. Proses reduksi molekul oksigen pada regenerasi ATP, 95-98% melalui reduksi tetravalen yang terjadi di mitokondria dengan sitokrom oksidase sebagai katalisatornya. Pada proses ini terjadi produk antara, yang berupa SOR. Sekitar 2-5% dari oksigen direduksi secara univalen, yang menghasilkan produk antara anion superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan radikal hidroksil (OH) (Monceaux C, 1999). Halliwell (1995) memperkirakan 1% oksigen yang digunakan untuk respirasi mitokondria dirubah menjadi radikal superoksida ( $O_2^-$ ) (Widodo, 2003).

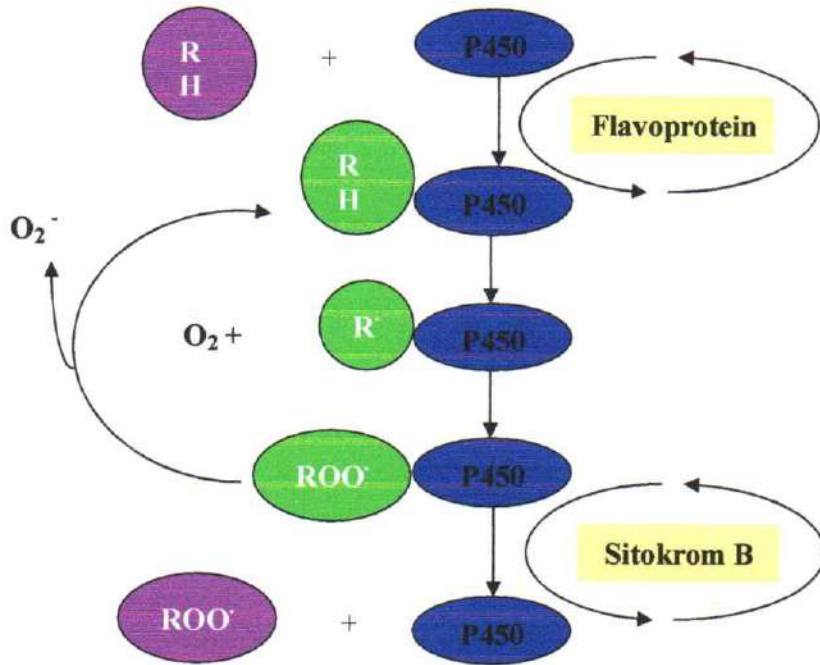
Sistem transport elektron dalam mitokondria dipaparkan dalam gambar di bawah ini :

Secara fisiologis, tubuh dapat menghasilkan senyawa radikal bebas melalui proses fosforilasi. Proses fosforilasi dalam mitokondria menyebabkan 1 molekul  $O_2$  tereduksi oleh 4 elektron bersama-sama dengan ion  $H^+$  membentuk 2 molekul  $H_2O$ . Namun bila jumlah elektron yang mereduksi oksigen kurang dari 4,

proses fosforilasi berlangsung tidak sempurna sehingga akan terbentuk senyawa radikal menurut reaksi berikut (Winarsi H, 2007) :



Oksigen yang kita hirup akan diubah oleh sel tubuh secara konstan menjadi senyawa yang sangat reaktif, dikenal sebagai ROS, satu bentuk radikal bebas. Peristiwa ini berlangsung saat proses sintesa energi oleh mitokondria atau proses detoksifikasi yang melibatkan enzim sitokrom P-450 di hati. Produksi ROS secara fisiologis ini merupakan konsekuensi logis dalam kehidupan aerobik (Saunasari R, 2006).



Gambar 2.3 Sistem tansport elektron dalam mitokondria (Saunasari, 2006)

Penyebab pasti peningkatan radikal bebas oksigen melalui reduksi univalen belum jelas. Pada keadaan dimana tekanan parsial lokal oksigen turun akibat ada defisit oksigen, menyebabkan penurunan aktifitas sitokrom oksidase. Untuk kelangsungan rantai transportasi elektron, diperlukan alternatif lain untuk akseptor elektron, yaitu quinon, yang terdapat dalam konsentrasi relatif tinggi di bagian dalam membran mitokondria. Bagian dari quinon yang merupakan komponen penerima elektron di dalam mitokondria adalah koenzim Q (CoQ). CoQ direduksi secara univalen menjadi semiquinon oleh elektron dari NADH atau suksinat dengan bantuan multienzim kompleks NADH-koenzim Q reduktase atau suksinat dehidrogenase. Semiquinon mempunyai sifat lipofilik, sehingga dapat dengan mudah melewati lapisan lipid membran mitokondria. Peningkatan

temperatur dapat meningkatkan mobilitas semiquinon melalui lapisan lipid membran mitokondria.

## 2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi untuk menghambat atau mencegah kerusakan sel dan jaringan akibat oksidasi. Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron (*electron donor*). Dalam arti biologis, pengertiannya adalah semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim dan protein pengikat logam (Halliwell, 1995).

Berdasarkan kelarutannya, antioksidan dibagi menjadi :

### 1. Antioksidan lipofilik

Bekerja di membran sel, contohnya tokoferol (vitamin E), beta karoten, ubikuinol dan flavonoid

### 2. Antioksidan hidrofilik

Bekerja di sitosol dan cairan luar sel, contohnya vitamin C, glutathion dan sistein (Amin, 1999).

Mekanisme antioksidan dalam meredam oksidan adalah :

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai)
3. Memperbaiki (*repair*) kerusakan oleh radikal



### 2.5.1 Antioksidan Pencegah

Antioksidan pencegah disebut juga antioksidan primer, misalnya *superoxide dismutase* (SOD), *glutathion peroxidase* (GSH-PX), *catalase* (CAT) dan protein pengikat logam. Tujuan utama antioksidan jenis ini adalah mencegah terbentuknya radikal hidroksil. Untuk membentuk radikal hidroksil diperlukan tiga komponen yaitu logam transisi Fe atau Cu,  $H_2O_2$  dan  $O_2^{\bullet-}$ . Agar reaksi Fenton tak terjadi maka harus dicegah adanya ion  $Fe^{++}$  atau  $Cu^{++}$  bebas. Untuk mencegah terbentuknya Fe ialah transferin dan feritin, sedangkan untuk Cu ialah seruloplasmin dan albumin. (Halliwell, 1999).

Antioksidan utama yang menjadi pencegah pembentukan dan penimbunan anion superoksida adalah SOD. Reaksi enzimatik ini mengubah anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan berlangsung sangat cepat. SOD terdapat pada setiap sel tubuh. Aktivitas SOD di sitoplasma memerlukan Zn dan Cu, sedang di mitokondria memerlukan Mn. Sekitar 84-92% aktivitas SOD terdapat di sitoplasma, sedang 8-16% terjadi di mitokondria. SOD terbukti penting dengan penelitian yang menggunakan teknik manipulasi genetik untuk mengubah kadar SOD atau melakukan delesi gen menyandi SOD. Hingga kini tak ditemukan kelainan genetik dengan defisiensi komplet SOD. Hal ini mungkin merupakan mutasi letal.

Enzim yang mencegah konversi hidrogen peroksida menjadi radikal hidroksil adalah katalase dan glutathione peroksidase. Perubahan hidrogen peroksida menjadi  $O_2$  dan  $H_2O$  dilakukan oleh enzim katalase :



dan peroksidase yaitu sekumpulan enzim yang mengkatalisis reaksi :



Apabila pada proses ini masih ada hidrogen peroksida yang tersisa, maka metabolisme menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  dilakukan oleh GSH-PX. Selain itu GSH-PX memiliki kemampuan penting, yaitu menyingkirkan gugus peroksida yang terdapat pada asam lemak membran, yang terbentuk akibat peroksidasi oleh radikal bebas. Hal ini dapat memulihkan membran dari kerusakan. Untuk sintesa GSH-PX diperlukan selenium.



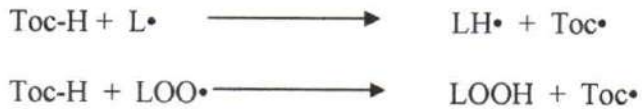
Apabila radikal hidroksil masih saja terbentuk, masih ada sarana untuk meredamnya, tanpa memberi kesempatan untuk memulai reaksi rantai dengan reaksi yang melibatkan senyawa yang mengandung gugusan sulfhidril seperti glutathion (GSH) dan sistein (Cys-SH) :



### 2.5.2 Antioksidan Pemutus Rantai

Antioksidan pemutus rantai, contohnya vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat), beta karoten dan dua senyawa yang juga berperan sebagai antioksidan pencegah yaitu glutathion dan sistein. Peroksidasi lemak dapat

menyebabkan kerusakan sel yang berat. Reaksi ini harus diredam dengan antioksidan lipofilik misalnya tokoferol dan beta karoten. Vitamin E terdiri dari empat senyawa, yaitu alfa, beta, gama dan delta tokoferol. Karena keberadaannya dalam membran, vitamin E dapat bereaksi dengan radikal lipid ( $L\cdot$ ) dan radikal peroksi lipid ( $LOO\cdot$ ):



Radikal tokoferol relatif stabil, meskipun demikian senyawa tersebut perlu diredam. Ada tiga cara, yaitu :

- Toc $\cdot$  mengalami reaksi-reaksi intramolekul menghasilkan senyawa non radikal
- Setelah bergeser ke arah permukaan membran, Toc bereaksi dengan vitamin C ( $\text{Asc-H}_2$ ) dan menghasilkan radikal vitamin C ( $\text{Asc}\cdot$ ):



Radikal vitamin C ( $\text{Asc}\cdot$ ) kemudian dihilangkan melalui reaksi dismutasi yang menghasilkan vitamin C dan dehidro-asam askorbat (DHAA):



- Toc bereaksi dengan glutathione atau sistein yang juga terdapat dalam sitosol :



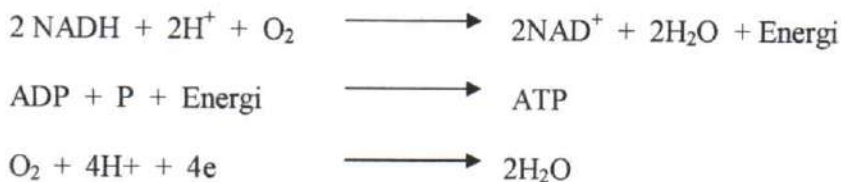
### 2.5.3 Antioksidan Tersier

Sel juga memiliki sistem untuk memperbaiki DNA dan protein yang mengalami kerusakan akibat radikal bebas serta memetabolisir lipid hidroperoksida (Halliwell et.al., 1995).

### 2.6 Terapi Oksigen Hiperbarik, Radikal Bebas dan Antioksidan

Pada tekanan udara lingkungan yang normal, hanya sedikit oksigen yang larut dalam darah. Pada tekanan hiperbarik, memungkinkan peningkatan kelarutan oksigen 6,4% di plasma, yang mana cukup untuk memenuhi kebutuhan oksigen tubuh. Dalam keadaan ini, oksihemoglobin tanpa mengalami perubahan melewati sistem arterial ke sistem venous, karena oksigen yang larut secara fisik di plasma jauh lebih cepat digunakan daripada yang terikat di hemoglobin.

Organisme aerobik membutuhkan oksigen untuk menghasilkan ATP sebagai sumber energi melalui proses fosforilasi oksidatif yang terjadi di mitokondria. Reaksi pembentukan ATP dan reduksi oksigen tetravalen (Guyton, 1992) :



Pada proses di atas terjadi pengalihan 4 elektron ( reduksi tetravalent ). Pada kondisi tertentu (stress oksidatif), yaitu dapat terjadi apabila diberi paparan OHB yang berlebihan. Jika  $\text{O}_2$  cukup banyak sementara NADH tetap maka electron hanya tereduksi sebagian (Weindruch R, 1988). Maka apabila NADH tidak

mencukupi atau berkurang maka pengalihan 4 elektron tersebut berjalan kurang sempurna (reduksi univalen) akibatnya  $O_2$  tidak bisa direduksi secara penuh sehingga terbentuk SOR yang sangat berbahaya (Oriani, 1996).

Seperti penjelasan diatas maka pemberian terapi OHB pada tekanan tinggi dapat meningkatkan radikal bebas karena menggunakan oksigen 100% yang merupakan sumber dari senyawa radikal bebas reaktif turunan dari oksigen atau SOR (Handjaya, 1996). Peningkatan SOR yang salah satunya adalah anion superoksida dan produk-produk metabolisme oksigen lainnya dapat dibuktikan dengan adanya *signal electron spin resonance* (ESR) pada darah orang yang mendapat paparan OHB, dan menjadi normal setelah 10 menit.

Peneliti lain menyatakan bahwa salah satu tempat utama pembentukan radikal superoksida adalah rantai transport elektron, yaitu yang membocorkan radikal bebas di koenzim Q. KoQ tereduksi adalah sumber utama radikal bebas oksigen. Sebagian elektron yang sedang dipindahkan, dari dua elektron (NADH dan  $FADH_2$ ) ke satu elektron (ubiquinon/Q) lolos. Kebocoran elektron ini apabila berinteraksi dengan oksigen akan membentuk superoksida. Selanjutnya superoksida akan diubah menjadi  $H_2O_2$  oleh enzim MnSOD yang ada di mitokondria (Jain, 1999).

Penggunaan terapi OHB selain mempunyai keuntungan juga mempunyai kerugian (Thom SR, 1994). Kerugiannya adalah meningkatnya senyawa  $O_2$  reaktif (Thibaut, 1996). Efuni et.al. (1984) menyatakan bahwa tubuh yang mendapat paparan OHB akan mengalami perubahan. Ada 3 tingkat reaksi tubuh, yaitu :

1. Tingkat adaptasi, merupakan tingkat inisiasi terhadap paparan OHB. Ditandai dengan peningkatan kadar SOR, besarnya tiap individu sangat berbeda
2. Tingkat respon adekuat, merupakan tingkat kedua, ditandai dengan peningkatan kadar enzim-enzim antioksidan, yang merupakan mobilisasi sistem pertahanan tubuh
3. Tingkat respon inadekuat, terjadi setelah paparan OHB yang berkepanjangan dan intensif. Ditandai dengan peningkatan kadar SOR, yang merupakan diskoordinasi antara sistem pertahanan tubuh (Jain, 1996).

## 2.7 Hsp 70

Sintesis protein pada semua sel akan terganggu oleh stress lingkungan, misalnya hipertermia. Di lain pihak, sel yang mengalami stres juga memiliki mekanisme sekalipun dalam kondisi sintesis protein normal mengalami hambatan total, memungkinkan mereka mensintesis sekelompok protein yang dikenal sebagai *heat shock protein* (Hsp). Beberapa di antara protein ini sekarang diketahui dapat memungkinkan pulihnya prosesing RNA dan sintesis protein normal setelah pemaparan terhadap hipertermia, dan dapat melindungi sel terhadap kerusakan lebih lanjut.

Sintesis Hsp juga terbukti dipicu oleh beraneka macam ares, termasuk pemaparan terhadap alkohol, logam berat, radiasi UV, virus, radikal oksigen dan beberapa sitokin dapat menimbulkan reaksi yang sama. Meningkatnya Hsp tampaknya berkaitan dengan hambatan sintesis protein normal (Albar Z, 2002). HSP berperan dalam fungsi seluler dasar seperti pelipatan protein, lalu lintas

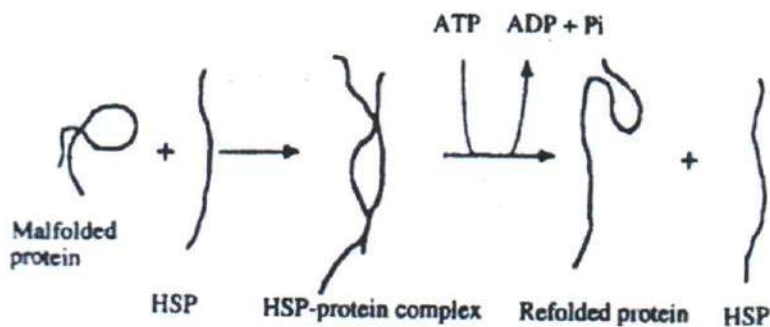
protein dan translokasi protein pada membran. Peran Hsp secara umum adalah sebagai molekul *chaperone* (protein pengarah protein) (Rosdiana N, 2002)

Sintesis protein berlangsung melalui suatu rangkaian proses dimulai dari suatu untaian polipeptida yang linier, kemudian protein akan membentuk konformasi yang khas untuk setiap protein dengan melakukan pelipatan. Agar dapat melakukan fungsinya, setiap protein harus berada dalam konformasinya masing-masing. Protein yang terbentuk di ribosom harus dapat masuk ke dalam retikulum endoplasma untuk mengalami modifikasi pasca translasi dan ke kompleks golgi untuk modifikasi lebih lanjut. Akhirnya, protein akan dikirim ke lisosom, vesikel sekretor dan membran plasma.

Proses pelipatan protein untuk membentuk konformasi yang khas memerlukan seperangkat protein untuk mengarahkan agar proses pelipatan yang terjadi berjalan dengan benar. Pada proses translokasi protein di dalam sel, protein mungkin ditranslokasikan dalam keadaan tidak terlipat, sehingga dapat ditranslokasikan oleh mekanisme yang sama. Pada proses sintesis dan translokasi protein, dapat terjadi agregasi protein. Agregasi dapat terjadi karena sifat hidrofil dan hidrofobik asam amino yang menyusun struktur protein. Protein dalam keadaan tidak terlipat mempunyai energi bebas yang lebih besar dibandingkan yang terlipat. Untuk mencegah agregasi, diperlukan suatu protein tertentu untuk melindungi permukaan protein yang mudah berinteraksi dengan terikat kepadanya. Protein ini disebut *chaperone*. HSp telah banyak dibuktikan mempunyai fungsi sebagai pengarah protein ini. Selain berperan dalam sintesis dan translokasi, Hsp juga berperan dalam menjaga protein menjadi tidak terlipat

(terdenaturasi) akibat adanya stres sehingga kemudian pada proses renaturasi akan melipat dengan benar (Rosdiana N, 2002).

Hsp 70 diduga terikat pada bagian hidrofobik yang terpapar pada protein yang terdenaturasi sebagian, sehingga mencegah pembentukan agregasi yang tidak dapat larut. Energi hidrolisis ATP kemudian digunakan untuk melepaskan Hsp dari substratnya dan diduga perubahan yang terjadi akan meningkatkan kemungkinan protein yang terdenaturasi mengalami *refolding* ke bentuk semula, sebelum *heat shock*. Gambar 2.3 menjelaskan protein yang terdenaturasi (*malfolded*) dengan bagian hidrofobik yang terpapar terikat pada Hsp, dan dalam proses ini menjadi lurus/terbuka. Dengan ATP, kompleks Hsp protein ini berdisosiasi memungkinkan timbul kesempatan kinetik bagi protein tersebut untuk terlipat kembali menjadi bentuk yang benar (seperti sebelum *heat shock*). Model ini memungkinkan sebuah molekul protein yang rusak mengalami beberapa kali siklus ikatan dengan Hsp, sehingga mempunyai kemungkinan semakin besar untuk kembali ke bentuk normal (Albar Z, 2002).



Gambar 2.4 Fungsi *unfoldase* Hsp (Albar Z, 2002)



Berdasarkan pola sintesisnya, Hsp dibagi 2 :

1. Hsp *constitutive*

Selalu ditemukan pada keadaan basal atau tanpa stres, tetapi akan diproduksi lebih banyak selama stress.

2. Hsp *inducible*

Hanya ada pada organisme yang mengalami stress

Hsp dikelompokkan dalam beberapa kelas yang mempunyai fungsi berbeda-beda. Penamaannya didasarkan atas berat molekul masing-masing protein. Kelas Hsp tersebut adalah 100-200, 80-100, 70, 58-65, 25-30 kD (kilo Dalton), serta ubiquitin (Rosdiana N, 2007).

## 2.8 TNF- $\alpha$ dan GLUT 4

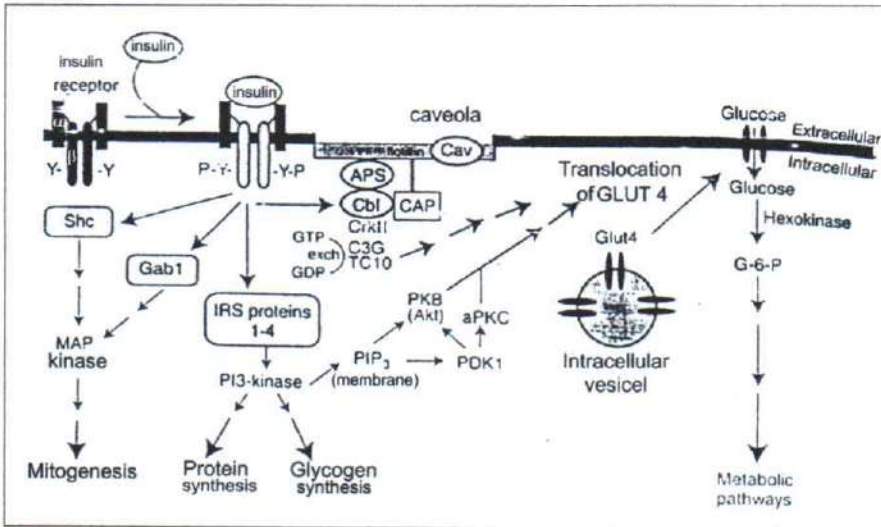
Jaringan adipose yang selama ini hanya dikenal sebagai organ tempat penyimpanan asam lemak bebas seperti trigliserid ternyata juga merupakan organ endokrin yang menghasilkan beberapa hormon disebut *adipokine*, yang mempengaruhi sensitivitas insulin walaupun peran masing-masing adipokine dalam memediasi terjadinya resistensi insulin belum sepenuhnya jelas, termasuk didalamnya TNF- $\alpha$ , leptin, resistin, interleukin-6, dan adiponektin.

Spigelman dkk. Menyatakan bahwa sitokin TNF- $\alpha$ , mempunyai peranan langsung pada perkembangan resistensi insulin pada kegemukan, TNF- $\alpha$  dilaporkan menyebabkan gangguan ambilan glukosa yang dirangsang insulin pada jaringan otot dan sel-sel adipose dan menekan translokasi *glucose transporter 4* (GLUT 4). Jadi TNF- $\alpha$  berperan baik secara lokal maupun sistemik pada



resistensi insulin yang berhubungan dengan kegemukan dianggap sebagai mediator resistensi insulin pada obesitas karena kadar leptin plasma berkorelasi dengan total masa lemak tubuh. Ekspresi leptin lebih banyak ditemukan pada lemak subkutan. Hiperinsulinemia akut akan menurunkan kadar leptin, sebaliknya kadar leptin akan meningkat pada resistensi insulin dan hiperinsulinemia kronik (Merentek, 2006)

Peningkatan sekresi leptin (dan atau penurunan produksi adiponektin) oleh adiposit dapat berperan dalam akumulasi makrofag melalui stimulasi penarikan makrofag ke dalam jaringan adiposa, serta mempromosi adhesi makrofag pada sel endotel. Oleh karena itu dapat dipahami bahwa kerusakan fisik endotelium, yang disebabkan oleh perubahan ukuran dan radikal bebas sebagai konsekuensi dari lingkungan yang lipolitik, dapat juga memberi kontribusi pada jaringan makrofag jaringan adiposa menjadi aktif, maka makrofag tersebut akan menghasilkan berbagai sitokin, diantaranya IL-6, IL1b, TNF- $\alpha$ . Pengaktifan faktor proinflamasi tersebut pada gilirannya akan mengganggu fosforilasi reseptor insulin, sehingga reseptor insulin tidak dapat berfungsi secara optimal untuk berikatan dengan lepasan insulin dalam sirkulasi, dan menimbulkan keadaan klinis yang dikenal sebagai resistensi insulin. Oleh sebab itu disfungsi adiposit tersebut, atau lebih dikenal sebagai "*sick fat cells*" pada gilirannya akan mengakibatkan resistensi insulin pada penderita dan diduga dengan pengaktifan faktor proinflamasi tersebut dapat menyebabkan gangguan keseimbangan anti-oksidan dan reaktif oksidatif spesies (Lawrence GS, 2004).



Gambar 2.5 GLUT 4 pada metabolisme glukosa di jaringan otot dan sel adiposa (Davis S.N., 2007)

Terapi OHB dilaksanakan terutama pada aktifitas dan penyakit sistemik autoimun dan telah didemonstrasikan pada beberapa kasus secara efektif (Saito, 1991) Pada penelitian terhadap 7 penderita *Corhm Disease* (CD) yang mendapat pengobatan OHB sebanyak 20 sesi selama waktu satu bulan dan dilakukan pengukuran IL-1, IL-6 dan TNF- $\alpha$ , nilai sitokin sebelum perawatan meningkat pada pasien dibandingkan dengan 10 kontrol normal dengan usia sebaya. Selama 7 hari pertama perawatan OHB, nilai IL-1,IL-6 dan TNF- $\alpha$  pada supernatan monosit yang distimulasi LPS (lipopolisakarida) yang berasal dari darah perifer pasien menurun jika dibanding dengan nilai sebelum perawatan (Weisz, 1997).

## **BAB 3**

# **KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS**

### BAB 3

#### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

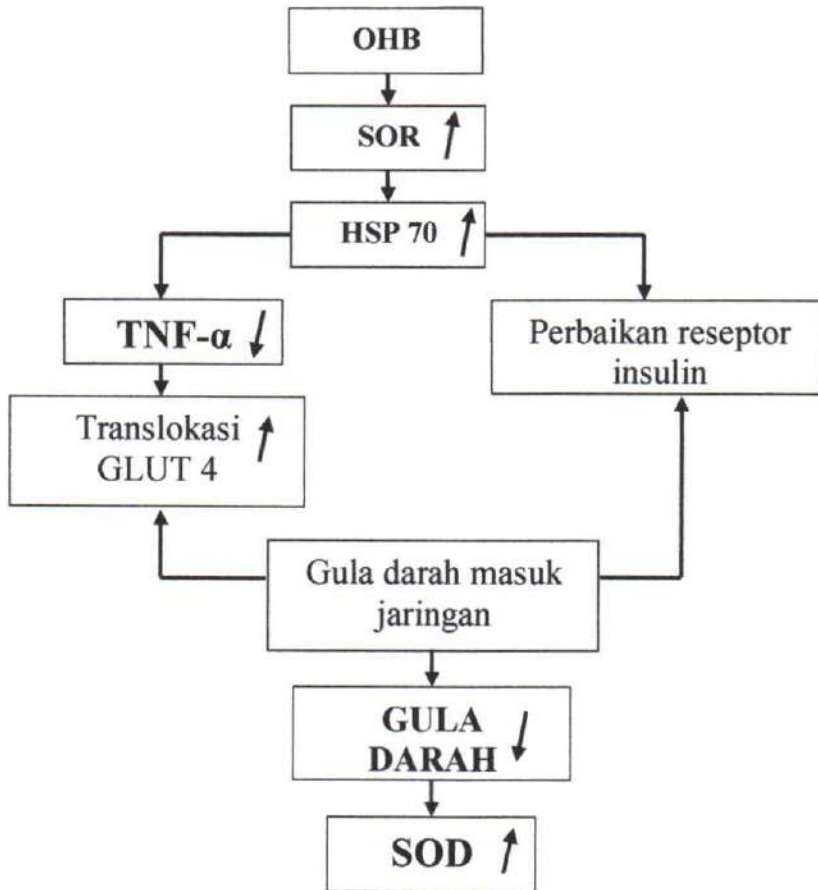
##### 3.1 Kerangka Konseptual

Efek terapi OHB dapat menyebabkan terjadinya peningkatan SOR di mitokondria. Terapi OHB 2,4 ATA dengan pemberian 3 kali O<sub>2</sub> 100% selama 30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari dihasilkan peningkatan SOR di mitokondria (Thibout G et.al., 1996).

Peningkatan SOR di mitokondria, segera diikuti oleh respon tubuh terutama hati untuk membentuk Hsp 70 sebagai proteksi sel dari *oxidative stress*. (Kurucz et.al., 2002). Hsp 70 sebagai *ligand* akan memperbaiki reseptor insulin yang mengalami kerusakan akibat radikal bebas yang tinggi, sebagai *carrier* akan meningkatkan *anti-tumour immunity* dan sekresi *pro-inflammatory cytokine* (TNF- $\alpha$ ) dari monosit (Pockley G, 2001 ; Fedoroff N, 2006). Sekresi TNF- $\alpha$  akan menstimulasi faktor antiinflamatori sehingga terjadi perbaikan reseptor insulin. Hsp 70 sebagai *chaperone* akan mencegah *malfolding* dan kerusakan protein yang disebabkan oleh TNF- $\alpha$  dan faktor stres lain. Hal ini mengakibatkan peningkatan ambilan glukosa, memperbaiki reseptor insulin yang mengalami kerusakan dan peningkatan translokasi GLUT 4 yang menyebabkan gula darah masuk ke dalam jaringan yang berakibat terjadi penurunan kadar gula darah. Penurunan kadar gula darah mengakibatkan peningkatan aktivitas antioksidan (Soeatmadji, 1998; Merentek, 2006).

Berdasar kerangka konseptual penelitian di atas, dapat disusun suatu bagan sebagai berikut : ( Gambar 3.1 )

### KERANGKA KONSEPTUAL



Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual

Keterangan : **—** parameter yang diteliti

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan perubahan penggunaan sebelum terapi OHB, hari ke 5 OHB dan hari ke 10 OHB pada dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari terhadap peningkatan Hsp 70, penurunan TNF- $\alpha$ , penurunan kadar gula darah dan peningkatan aktivitas SOD pada penderita DM tipe 2.

**BAB 4**  
**METODE PENELITIAN**

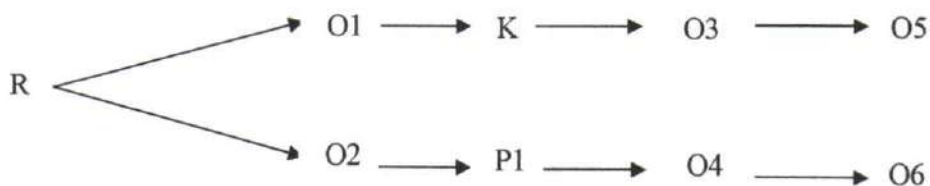


## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah “ *Randomized Control Group The Pretest Post Test Design*” (Zainuddin, 2000; 52).



Keterangan :

- R = Randomisasi
- K = Kontrol
- P1 = Perlakuan
- O1 = *Pretest* kelompok kontrol
- O2 = *Pretest* kelompok perlakuan
- O3 = *Midtest* kelompok kontrol
- O4 = *Midtest* kelompok perlakuan
- O5 = *Postest* kelompok kontrol
- O6 = *Postest* kelompok perlakuan

#### 4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel

##### 4.2.1 Populasi

Penderita NIDDM laki-laki di Poli Diabetes RSAL Dr. Ramelan.

#### 4.2.2 Sampel

Dalam penelitian ini digunakan peserta coba yaitu penderita DM di Poli Dabetes RSAL Dr. Ramelan yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi yang telah ditentukan sehingga diharapkan didapatkan peserta coba yang mendekati homogen.

##### **Kriteria *inclusion* sampel**

1. Tipe NIDDM
2. Usia antara 45 – 65 tahun
3. Jenis kelamin laki-laki
3. Diagnosa fisik normal
4. Pemeriksaan tekanan darah baik (<140/90) sesuai pengendalian DM (Hendromartono, 1999).
5. Pemeriksaan foto thorax normal
6. Pemeriksaan THT normal ( tidak sedang pilek dan sinusitis )
7. Pemeriksaan EKG normal
8. Kadar glukosa darah 2 J PP antara 200 – 400 mg/dl. Kadar glukosa darah tidak lebih dari 400 mg/dl untuk mencegah terjadinya glukautooksidasi.
9. Kadar HbA1c masih baik (4-5,9) sesuai Konsensus DM Indonesia 1998
10. Berat badan normal . Untuk menghitung berat badan (BB) normal digunakan rumus **Body Mass Index ( BMI ) :**

$$\text{BMI} = \frac{\text{Berat Badan dalam kg}}{(\text{Tinggi Badan dalam meter})^2}$$

Berat Badan kurang : < 18,5	—————>	Normal	: 18,5 – 24,9
Berat Badan lebih : 25,0 – 29,9	—————>	Gemuk Klas I	: 30,0 – 34,9
Gemuk Kelas II : 35,0 – 39,9	—————>	Gemuk Kelas III	: > 40,0

11. Penderita memakai *oral anti diabetic* (OAD) yang sama

**Kriteria exclusion sampel**

1. Mengonsumsi vitamin C dan E yang sama
2. Riwayat konsumsi alkohol
3. Riwayat penyakit hati, ginjal, kejang
4. Tidak menderita komplikasi (albuminuria, retinopati, neuropati)
5. Sedang mendapat terapi sitostatika, tuberkulostatika (INH), hormon steroid.

**Kriteria drop out**

Menderita *claustrofobia* (takut pada tempat tertutup, gelap dan sempit)

Dari peserta coba ini, kemudian dilakukan randomisasi dan dibagi menjadi 2 kelompok dengan cara random yaitu :

1. Kelompok perlakuan : kelompok peserta coba yang akan diberikan terapi OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari.
2. Kelompok kontrol : kelompok peserta coba tanpa diberikan perlakuan.

**4.2.3 Besar Sampel**

Besar sampel ditentukan berdasarkan hasil penelitian pendahuluan. Dari hasil penelitian pendahuluan ini dimasukkan dalam rumus sebagai berikut (Higgins and Klinbaum, 1985) : Besar sampel :

$$n = \frac{1}{1-f} \left[ \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 S_c^2}{(X_t - X_c)^2} \right]$$

Keterangan :

$n$  = besar sampel

$Z\alpha$  = nilai standart normal yang besarnya tergantung  $\alpha$ .

Tingkat kemaknaan (kesalahan tipe 1), setelah ditemukan dihitung  $Z\alpha$  yang dapat dibaca dari tabel distribusi normal yaitu 1,96

$Z\beta$  = nilainya tergantung  $\beta$  yang ditentukan.

Tingkat kemaknaan (kesalahan tipe 2), setelah ditemukan dihitung  $Z\beta$  yang dapat dibaca dari tabel distribusi normal yaitu 1,28

$X_c$  = nilai rerata kelompok kontrol yaitu 1,51

$X_t$  = nilai rerata kelompok perlakuan yaitu 1,55

$S_c$  = standart deviasi kelompok kontrol yaitu 0,023

$f$  = proporsi yang gagal (5%)

Dari hasil penelitian pendahuluan (Satria, 2001; 23) didapatkan besarnya sampel sebagai berikut

$$n = \frac{1}{(1-0,05)} \frac{2(1,96+1,28)^2(0,023)^2}{(1,55-1,51)^2} = 7,23 \text{ sampel}$$

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah oksigen bertekanan tinggi.

#### 4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah : kadar Hsp 70, SOD, TNF- $\alpha$  dan glukosa darah.

### 4.3.3 Variabel Moderator

Variabel moderator pada penelitian ini adalah jenis kelamin, umur, tekanan darah, berat badan, tinggi badan, BMI, kadar GD 2 jam PP, Hb A1c.

### 4.3.4 Definisi Operasional Variabel

Variabel-variabel dalam penelitian ini didefinisikan sebagai berikut :

1. Oksigen bertekanan tinggi

Oksigen bertekanan tinggi adalah pemberian oksigen di dalam ruangan udara bertekanan tinggi sebesar 2,4 ATA O<sub>2</sub> 100% selama 3 x 30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari. Pada terapi ini, peserta coba dilakukan penekanan sampai pada 2,4 ATA menghirup udara biasa tanpa menggunakan oksigen selama 10 menit, kemudian bernafas dengan O<sub>2</sub> 100 % selama 90 menit dibagi 3 masing-masing 30 menit dengan diselingi 5 menit bernafas dengan udara biasa. Setelah itu 10 menit untuk mengurangi tekanan menghirup udara biasa sampai kembali ke tekanan normal.

2. Kadar Hsp 70

Kadar Hsp 70 diambil dari limfosit darah, dimana limfosit dilisiskan terlebih.

3. Kadar TNF- $\alpha$

Kadar TNF- $\alpha$  yang diambil dari serum darah

4. Kadar SOD eritrosit

Adalah enzim yang spesifik untuk radikal bebas. Substrat utama SOD adalah anion superoksida, yang dikatalisa menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. SOD pada manusia adalah SOD eritrosit darah

#### 5. Glukosa Darah

Glukosa Darah adalah kadar glukosa yang diambil dari vena sebelum dan sesudah perlakuan ke 5 dan ke 10.

#### 4.4 Rancangan Analisis Statistik

Berdasarkan rancangan yang digunakan dalam penelitian ini maka teknik pengolahan data yang digunakan adalah statistik deskriptif, uji normalitas, uji homogenitas, uji manova dan analisa diskriminan.

#### 4.5. Bahan dan Instrumen Penelitian

##### 4.5.1. Paparan OHB

1. Satu unit RUBT
2. Gas O<sub>2</sub> dengan konsentrasi 100%

##### 4.5.2 Pengukuran Kadar Hsp 70

Bahan untuk mengukur kadar Hsp 70 digunakan :

1. Pipet blank
2. Wash buffer
3. Hsp 70 antibody
4. Hsp conjugate
5. Stop solution
6. TMB substrat
7. Elisa reader

#### 4.5.3 Pengukuran Kadar TNF- $\alpha$

Bahan untuk mengukur TNF- $\alpha$  digunakan :

1. Pipet 100 ul
2. Assay buffer
3. Sampel darah
4. Yellow antibody
5. Substrat solution
6. Stop solution
7. Shaker
8. Blue conjugate
9. Elisa reader

#### 4.5.4 Pengukuran Kadar SOD

Bahan untuk pemeriksaan SOD :

1. Xanthine  $25 \times 10^{-6}$
2. Xanthine oksidase 1 unit/ml
3. Nitroblue Tetrazolium (NBT) 0,05 M
4. EDTA 0,05 M
5. Buffer Phosphate (BP) 0,05 M pH 7,4
6. Dimethyl formamide (DMF) 70%
7. Aquabidest (dd H<sub>2</sub>O)
8. Sampel darah

Alat untuk pemeriksaan SOD :

1. Tabung reaksi

2. Ependorf
3. Waterbath
4. Transpipet dan tip
5. Kertas saring whatman 42
6. Microcentrifuge
7. Spektrofotometer

#### **4.5.5 Pengukuran Kadar Glukosa Darah**

Alat untuk pemeriksaan glukosa darah :

1. Sduit dan jarum 3 cc
2. Tourniquet
3. Tabung reaksi
4. Centrifuge
5. Fortex mixer
6. Refrigerator

Bahan untuk pemeriksaan glukosa darah:

1. Standar glukosa
2. Buffer/enzim/khromogen yang terdiri dari atas :
3. Buffer phosphate pH 7,0
4. Fenol
5. POD : peroksidase
6. GOD : glukosa oksidase dehidrogenase
7. ABTS : aminoferason
8. Sampel darah



#### **4.6 Lokasi Penelitian**

1. RUBT di LAKESLA (Lembaga Kesehatan Kelautan TNI AL) di dalam kompleks RSAL Dr. Ramelan , Jl. Gadung no. 1 Surabaya
2. Poli Diabetes, Poli Jantung, Poli THT RSAL Dr. Ramelan Surabaya
3. Departemen Radiologi RSAL Dr. Ramelan Surabaya
4. Laboratorium klinik RSAL Dr. Ramelan Surabaya
5. Laboratorium Biomedik FK UNBRAW.

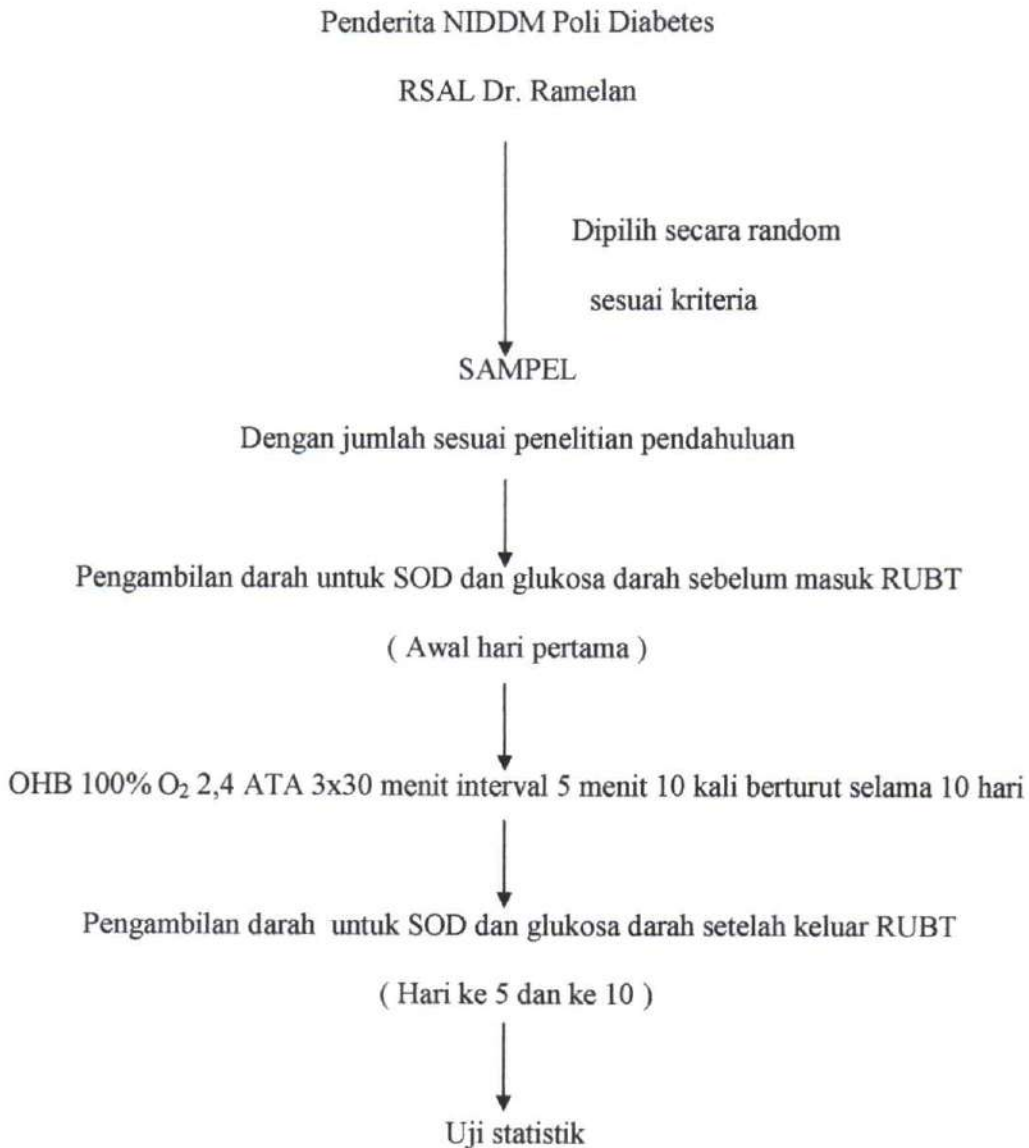
#### **4.7 Prosedur Pengambilan Data**

##### **4.7.1 Prosedur Pemeriksaan**

Pada awal penelitian peserta coba dilakukan randomisasi, dan kemudian dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dengan jumlah sesuai hasil penelitian pendahuluan. Setelah itu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diambil darahnya dan dimasukkan dalam tabung yang sudah diberi tanda sesuai jumlah sampel.

Kelompok perlakuan dimasukkan dalam RUBT dan diberi oksigen bertekanan tinggi dengan tekanan sebesar 2,4 ATA selama 90 menit. Perlakuan ini dilakukan 10 kali berturut-turut selama 10 hari. Kelompok perlakuan diambil darahnya pada hari ke 5 dan ke 10, kemudian masing-masing hasil laboratorium ini dibandingkan dengan hasil laboratorium sebelum perlakuan. Demikian juga dengan kelompok peserta kontrol, diambil darahnya pada hari ke 5 dan ke 10 dan hasilnya juga dibandingkan dengan hasil laboratorium pada hari ke 0. Selanjutnya

laboratorium tersebut dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada bagan penelitian di bawah ini :



Gambar 4.1 Bagan Kerangka Penelitian

#### 4.7.2 Teknik Pengukuran Kadar Hsp 70

1. Pipet blank (sampel diluent 2), standar dan sampel darah dalam well, kemudian diinkubasi selama 2 jam dalam suhu ruangan. Cuci dengan 1 kali wash buffer @ 200 ul selama 4x3 menit
2. Tambahkan 100ul Hsp 70 antibody, inkubasi selama 1 jam. Cuci dengan 1 kali wash buffer @ 200 ul selama 4x3 menit
3. Tambahkan 100 ul Hsp conjugate, inkubasi selama 1 jam. Cuci dengan 1 kali wash buffer @ 200 ul selama 4x3 menit
4. Tambahkan 100 ul TMB substrat, inkubasi selama 30 menit. Stop dengan 100 ul stop solution 2, inkubasi selama 15 menit. Baca dengan Elisa reader pada panjang gelombang 450 nm.

#### 4.7.3 Teknik Pengukuran Kadar TNF- $\alpha$

1. Assay buffer diambil dengan pipet 100 ul dalam So (blanko). Standart 1 sd 8 dan sampel diambil dengan pipet 100 ul dalam well, lalu tutup kemudian inkubasi selama 1 jam dalam suhu ruangan, goyang. Cuci dengan 1 kali wash buffer 3x3 menit (@ 200 ul) dalam well
2. Yellow antibody diambil dengan pipet 100 ul (kecuali blanko) lalu tutup dan inkubasi selama 1 jam dalam suhu ruangan, goyang. Cuci dengan 1 kali wash buffer 3x3 menit (@ 200 ul) dalam well. Tambahkan dengan 100 ul Blue conjugate (kecuali blanko), lalu tutup dan inkubasi selama 30 menit dalam suhu ruangan, goyang. Cuci dengan 1 kali wash buffer 3x3 menit (@ 200 ul) dalam well

3. Tambahkan dengan 100 ul substrat solution, inkubasi selama 30 menit dalam suhu ruangan lalu kocok. Tambahkan dengan 100 ul stop solution lalu baca dengan Elia reader dengan panjang gelombang 450 nm.

#### 4.7.4 Teknik Pengukuran Kadar SOD Darah

Penentuan kadar SOD dilakukan menurut protokol Wong dkk(1989).Dasar teorinya :

1. Apabila xantin direaksikan dengan xantin oksidase akan terbentuk radikal bebas superoksid ( $O_2^-$ )



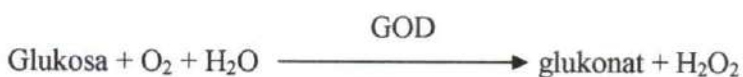
2. Superoksid ini dapat mereduksi NBT membentuk warna formazan, yang mempunyai panjang gelombang 580 nm

3. SOD mampu menghambat superoksid untuk mereduksi NBT. Berdasarkan reaksi ini ditentukan kadar SOD, yang besarnya sesuai dengan kemampuannya menghambat reduksi NBT, dengan membuat kurva baku hambatan SOD terhadap  $O_2^-$  dalam mereduksi NBT.

#### 4.7.5 Teknik Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Untuk pengukuran kadar glukosa darah digunakan metode enzimatik dengan reagensia GOD – perid.

Prinsip reaksi :



Persiapan sampel :

Dalam penelitian ini digunakan darah. Darah yang telah diambil dibiarkan tetapi tidak boleh lebih dari satu jam, kemudian dipusingkan dan serumnya dipisahkan. Serum tersebut digunakan untuk menentukan kadar glukosa darah. Bila penentuan tidak segera dilakukan, serum disimpan dalam keadaan beku ( $-20^{\circ}\text{C}$ ). Serum yang telah disimpan dalam keadaan beku bila hendak digunakan ambil dan biarkan mencair pada suhu kamar. Kemudian dihomogenkan dengan bantuan "*fortex mixer*" selama 2 menit.

Reagensia terdiri dari :

Larutan 1 : standar glukosa

Larutan 2 : buffer/enzim/kromogen yang terdiri atas :

buffer phosphphate pH 7,0

fenol

POD : peroksidase

GOD : glukosa oksidase dehidrogenase

ABTS : aminoferason

Prosedur pemeriksaan :

	Blangko	Standar	Sampel
Standar	-	0,03 ml	-
Sampel	-	-	0,03 ml
Reagen	3,00 ml	3,00 ml	3,00 ml

Setelah dicampur diinkubasi pada suhu 20-25°C, hindari sinar matahari langsung.

Setelah 30-90 menit sejak pencampuran reagen dengan sampel, ditentukan absorbansi (A) standard sampel pada panjang gelombang 510 nm.

Perhitungan :

$$K = 100 \times A \text{ sampel (mg/dl)}$$

Keterangan :

K = konsentrasi glukosa

A = absorbansi

**BAB 5**  
**HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN**

**BAB 5****HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN****5.1 Data Variabel Moderator**

Data hasil penelitian variabel moderator homogen baik kelompok OHB maupun kelompok kontrol. Selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 5 pada halaman 97, sedangkan hasil analisis data dicantumkan pada tabel berikut :

Tabel 5.1 Data homogenitas variabel moderator

Variabel Moderator	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
Umur	56,08	7,365	58,84	6,051
Berat Badan	66,85	6,866	63,77	6,866
Tinggi Badan	165,62	5,042	163,08	5,408
BMI	24,32	17,27	23,91	26,65
HbA1c	7,0692	0,92771	6,7846	1,02131

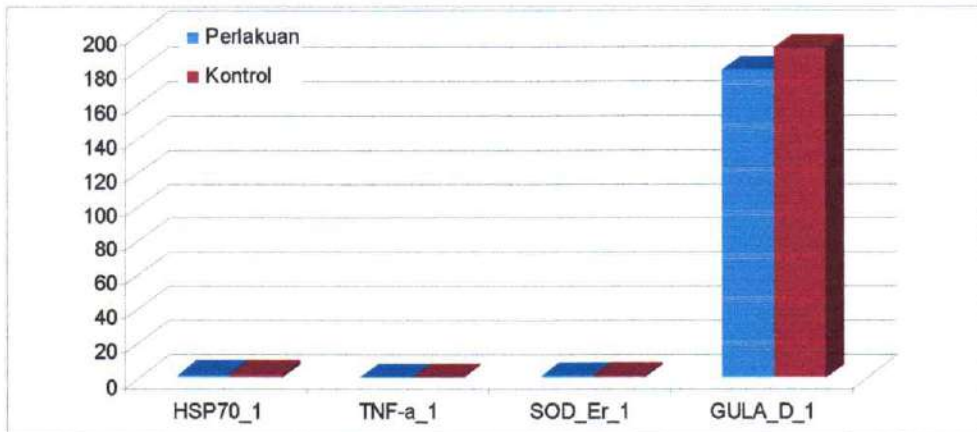
**5.2 Kondisi Pra (Awal) OHB****5.2.1 Kondisi Pra OHB Variabel Tergantung (Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan Gula Darah)**

Untuk melihat data pra OHB (P1) dengan menggunakan analisis multivariat didapatkan rerata dan simpangan baku seperti dalam tabel 5.2 dan hasil analisisnya menggunakan metode Wilks Lambda dimana  $F_{hit} = 1,406$  dengan tingkat signifikan  $p = 0,266$  ( $p > 0,05$ ) (lihat lampiran 6 halaman 100) artinya secara statistik antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol tidak ada beda atau homogen (lihat gambar 5.1).



Tabel 5.2 Rerata data pra OHB variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
Hsp 70_P1	1,66892	0,308267	1,90031	0,554333
TNF- $\alpha$ _P1	0,42592	0,044927	0,49515	0,068154
SOD_P1	1,05862	0,150333	1,24246	0,486557
Gula Darah_P1	179,85	72,433	192,15	84,590

Gambar 5.1 Diagram rerata data pra OHB variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

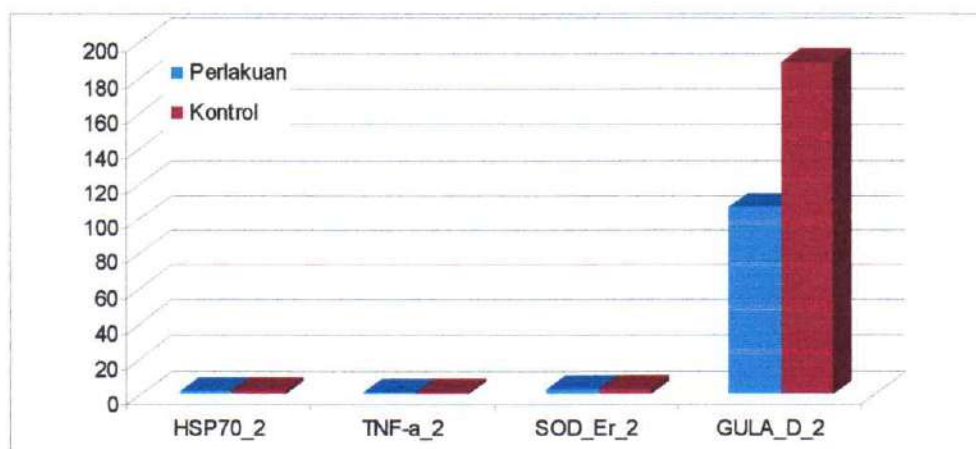
### 5.2.2 Kondisi Pada OHB Hari ke 5 Variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan Gula Darah

Untuk melihat kondisi pada hari ke 5 (P2) dengan menggunakan analisis multivariat didapatkan rerata dan simpangan baku seperti dalam tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rerata data OHB hari ke 5 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
Hsp 70_P2	1,68169	0,357177	1,85515	0,603889
TNF- $\alpha$ _P2	0,42969	0,040244	0,44662	0,059283
SOD_P2	2,28062	0,613323	2,55254	0,443764
Gula Darah_P2	106,23	27,839	188,92	80,023

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana F hit = 3,431 dengan tingkat signifikan  $p = 0,026$  ( $p < 0,05$ ) (lihat lampiran 7, halaman 102) artinya antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ada perbedaan signifikan. Dari keempat variabel hanya gula darah yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) (lihat gambar 5.2) antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Gambar 5.2 Diagram rerata data OHB hari ke 5 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

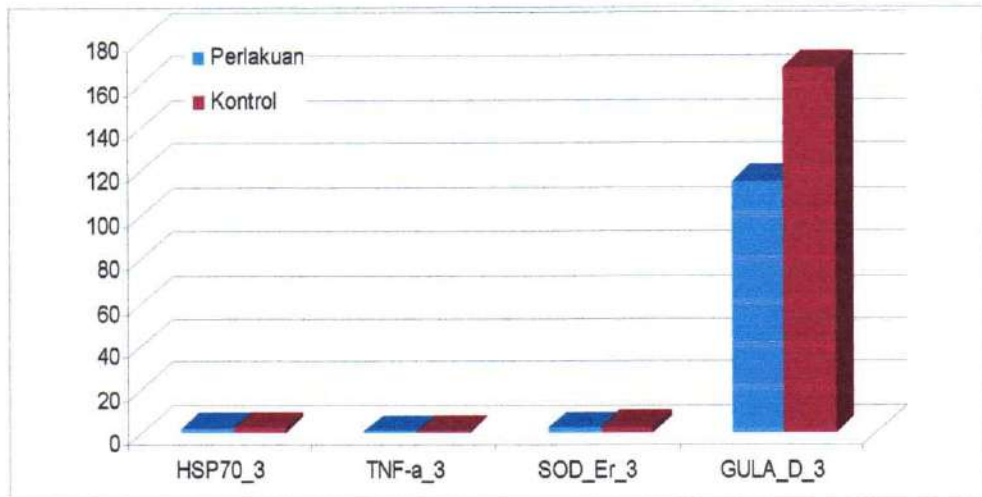
### 5.2.3 Kondisi OHB Hari ke 10 Variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan Gula Darah

Untuk melihat kondisi hari ke 10 dengan menggunakan analisis multivariat didapat rerata dan simpangan baku seperti pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Rerata data OHB hari ke 10 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
Hsp 70_P3	1,70715	0,269	0,18744	0,587238
TNF- $\alpha$ _P3	0,40500	0,40594	0,42708	0,047135
SOD_P3	2,11469	0,560017	2,55415	0,326150
Gula Darah_P3	115,31	44,808	167,23	41,393

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana F hit = 6,204 dengan tingkat signifikan  $p = 0,002$  ( $p < 0,05$ ) (lihat lampiran 8 halaman 104) artinya antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ada perbedaan signifikan. Dari keempat variabel hanya gula darah yang berbeda signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol (lihat gambar 5.3).



Gambar 5.3 Diagram rerata data OHB hari ke10 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

### 5.3 Perubahan (Delta/D) Variabel

#### 5.3.1 Perubahan Antara Pra OHB Dengan OHB Hari ke 5 Variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan Gula Darah

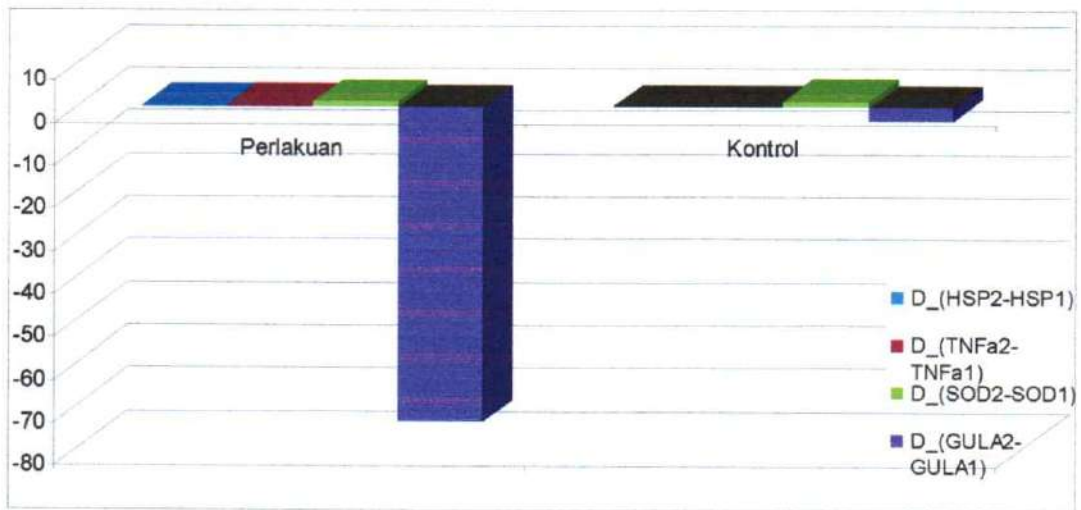
Untuk melihat perubahan dari pra OHB dengan hari ke 5 dilakukan pengurangan antara hari ke 5 dikurangi pra OHB, dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Data perubahan variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
D_Hsp 70_2_1	0,01277	0,283695	-0,04515	0,2033200
D_TNF- $\alpha$ 2_1	0,00377	0,036394	-0,01254	0,054323
D_SOD2_1	1,22200	0,662200	1,31008	0,668198
D_Gula Darah2_1	-73,6154	57,63179	-3,2308	40,71681

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda didapat F hit = 3,953 dengan tingkat signifikan  $p = 0,015$  ( $p < 0,05$ ) (lihat lampiran 9 halaman

106) artinya ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Dari keempat variabel hanya gula darah mengalami perubahan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol (lihat gambar 5.4).



Gambar 5.4 Diagram perubahan Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

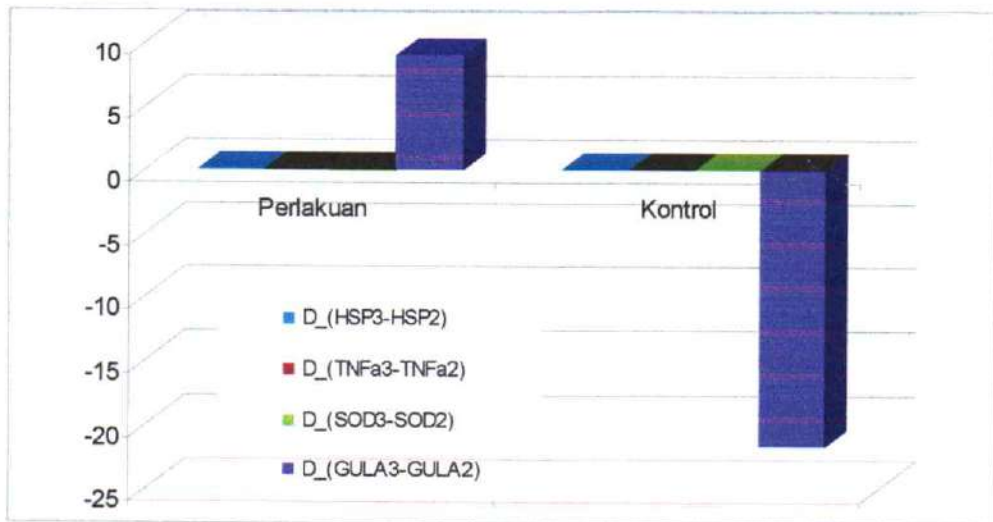
### 5.3.2 Perubahan Antara OHB Hari ke 5 Dengan OHB Hari ke 10 Variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan Gula Darah

Untuk melihat perubahan dari OHB hari ke 5 dengan OHB hari ke 10 dilakukan pengurangan (delta) antara hari ke 10 dikurangi OHB hari ke 5, dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Rerata data perubahan antara OHB hari ke 5 dengan OHB hari ke 10 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
D_ Hsp 703_2	0,2546	0,294686	0,01931	0,275069
D_ TNF- $\alpha$ 3_2	-0,02469	0,025359	6-0,01954	0,0283351
D_ SOD3_2	-0,16592	1,2028469	0,00162	0,0625401
D_ Gula Darah3_2	9,0769	30,05678	-21,6923	67,70326

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda F hit = 0,795 dengan tingkat signifikan  $p = 0,542$  ( $p > 0,05$ ) (lihat lampiran 10 halaman 107 gambar 5.5) artinya antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol walaupun ada perubahan tetapi secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan.



Gambar 5.5 Diagram perubahan perubahan antara OHB hari ke 5 OHB hari ke 10 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

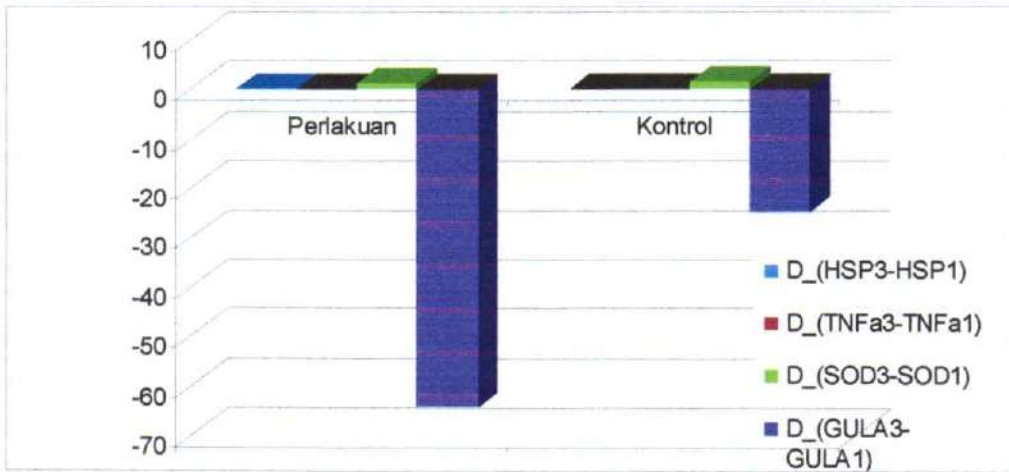
### 5.3.3 Perubahan Antara Pra OHB Dengan OHB Hari ke 10 Variabel Hsp70, TNF- $\alpha$ , SOD dan Gula Darah

Untuk melihat perubahan dari pra OHB dengan OHB hari ke 10 dilakukan pengurangan (delta) antara OHB hari ke 10 dikurangi pra OHB, dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Rerata data perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke 10 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
D_Hsp 70 3_1	0,03823	0,284681	-0,02585	0,354910
D_TNF- $\alpha$ 3_1	-0,02092	0,041185	-0,03208	0,043963
D_SOD3_1	1,05608	0,545548	1,31169	0,634648
D_Gula Darah3_1	-64,5385	60,88187	-24,9231	79,86286

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana  $F_{hit} = 0,762$  dengan tingkat signifikan  $p = 0,561$  ( $p > 0,05$ ) (lihat lampiran 11 halaman 109 gambar 5.6) artinya tidak ada perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, walaupun ada perubahan tetapi secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan.



Gambar 5.6 Diagram perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

**5.4 Analisis diskriminan variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah**

Dari hasil analisis diskriminan pada OHB hari ke 5 didapatkan semua variabel bisa membedakan. Untuk mendapatkan kontribusi setiap variabel dilakukan perkalian Fisher linier dan data aslinya (lihat lampiran 6 halaman 99) (model regresi Fisher linier).

Tabel 5.8 Tabel Fisher' linier

Classification Function Coefficients		
	KEL	
	Perlakuan	Kontrol
D_(HSP2-HSP1)	-0.861	-4.182
D_(TNFa2-TNFa1)	-8.649	-19.263
D_(SOD2-SOD1)	2.678	3.718
D_(GULA2-GULA1)	-0.024	.009
(Constant)	-3.180	-3.329

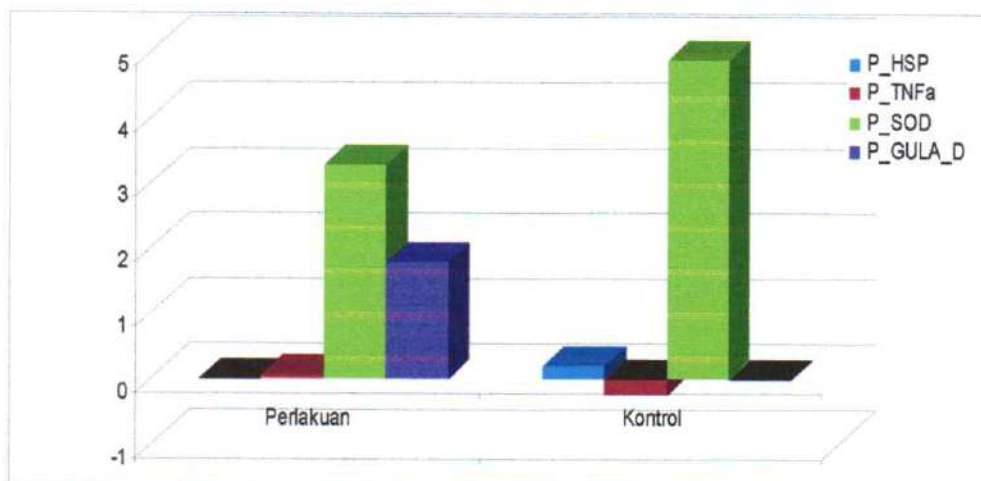
Fisher's linear discriminant functions



Tabel 5.9 Pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke 5 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
P_Hsp 70 P2_1	-0,0110	0,24426	0,1888	0,84978
P_TNF- $\alpha$ P2_1	0,0326	0,31477	-0,2415	1,04641
P_SOD P2_1	3,2725	1,77337	4,8709	2,48436
P_Gula Darah P2_P1	1,7668	1,38316	-0,0291	0,036645

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana F hit = 6,717 dengan tingkat signifikan  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ) (lihat lampiran 19 halaman 122) artinya setelah diberi perlakuan ternyata Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah antara pra OHB dengan OHB hari ke 5 ada kontribusi yang positif terhadap efek OHB. SOD pada pada kelompok OHB mempunyai nilai kontribusi positif (lebih tinggi dibanding TNF- $\alpha$  dan Hsp 70) terhadap penurunan kadar gula darah (lihat gambar 5.7).



Gambar 5.7 Pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke 5 variabel Hsp 70, TNF- $\alpha$ , SOD dan gula darah

**BAB 6**  
**PEMBAHASAN**

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Kondisi Pra OHB

Dari hasil analisis penelitian didapatkan variabel moderator dan tergantung homogen.

#### 6.2 Kondisi Hari ke 5 OHB

##### 6.2.1 Pemeriksaan Kadar Hsp 70

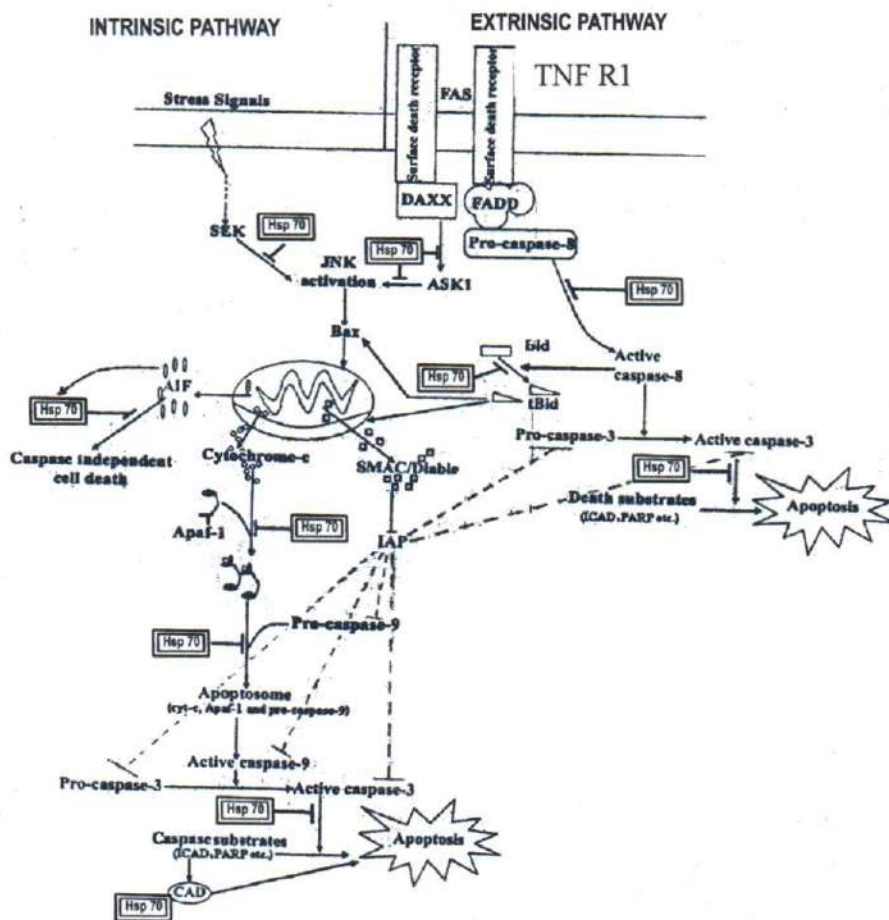
Pada pemeriksaan kadar Hsp 70 pada kelompok OHB cenderung terjadi peningkatan dibanding kelompok kontrol.

Seperti diketahui paparan OHB menimbulkan respon tubuh, yaitu tingkat adaptasi atau tingkat inisiasi (fase alarm) yang ditandai dengan peningkatan SOR (G. Thibaut, 1990). Sintesis Hsp juga terbukti dipicu oleh beraneka macam ares, termasuk pemaparan terhadap alkohol, logam berat, radiasi UV, virus, radikal oksigen (salah satunya adalah efek terapi OHB) dan beberapa sitokin dapat menimbulkan reaksi yang sama (Albar Z, 2002). Dengan meningkatnya SOR di mitokondria, segera diikuti oleh respon tubuh terutama hati untuk membentuk Hsp 70 sebagai proteksi sel dari *oxidative stress* (Kurucz et.al., 2002).

Hsp 70 sebagai *ligand* akan memperbaiki reseptor insulin yang mengalami kerusakan akibat radikal bebas dan faktor lain.

Hsp 70 melalui fungsi *chaperone* dengan mencegah *malfolding* dan agregasi protein. Studi terkini menduga bahwa Hsp 70 berhubungan dengan jalur

kematian sel, seperti apoptosis dan menghambat protein perusak, misalnya matriks metalloproteinase (MMPs), juga TNF- $\alpha$  (Tang et.al, 2007). Hsp 70 sebagai suatu protein anti apoptosis, bekerja pada jalur apoptosis baik intrinsik dan ekstrinsik pada sejumlah step dan menghambat kematian sel melalui aktifitas baik tergantung maupun tidak tergantung *chaperone*, dapat dilihat pada gambar di bawah ini (Arya R, 2007) :



Gambar 6.1 Hsp 70 sebagai anti apoptosis umum melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik ( Arya R, 2007 )

Hsp 70 menghambat pembentukan kompleks apoptosome fungsional oleh interaksi langsung dengan Apaf-1 pada jalur intrinsik. Hsp 70 menjaga kejadian tergantung *caspase* lanjut seperti aktivasi sitosolik fosfolipase A2 dan perubahan pada morfologi nuklear, juga dapat melindungi sel dari pemaparan *caspase-3*.

Hsp 70 dapat tidak tergantung pada aktivitas *chaperonnya*, menghambat kematian sel dihantarkan JNK, dengan menekan fosforilase JNK baik langsung dan atau melalui protein kinase.

Aktivasi Bid yang dihantarkan *caspase-8*, memungkinkan Bax bermigrasi ke dalam membran mitokondria untuk memicu pelepasan berbagai faktor kematian, merupakan garis antara jalur ekstrinsik dan intrinsik. Hsp 70 meregulasi aktivasi Bid yang tidak tergantung fungsi *chaperonnya* sehingga dapat mempengaruhi kedua jalur. Berbagai stimuli yang menyebabkan kematian atau apoptosis melalui aktivasi ASK-1, Hsp 70 menghambat apoptosis yang dihantarkan TNF dengan menghambat ASK-1.

Hsp 70 berperan sebagai anti apoptotik pada jalur tidak tergantung *caspase* dan melalui pengikatannya dengan *apoptosis inducing factor* (AIF) yang dilepas dari mitokondria setelah stimuli pemicu kematian dan karenanya menekan translokasinya ke dalam nukleus. Hsp 70 juga menghambat jalur kematian sel yang tidak tergantung *caspase* yang dihantarkan lisosom karena mempertahankan integritas membran lisosom dan mencegah pelepasan kathepsin ke dalam sitosol.

### **6.2.2 Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$**

Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok OHB hari ke 5 cenderung terjadi peningkatan dibanding kelompok kontrol.

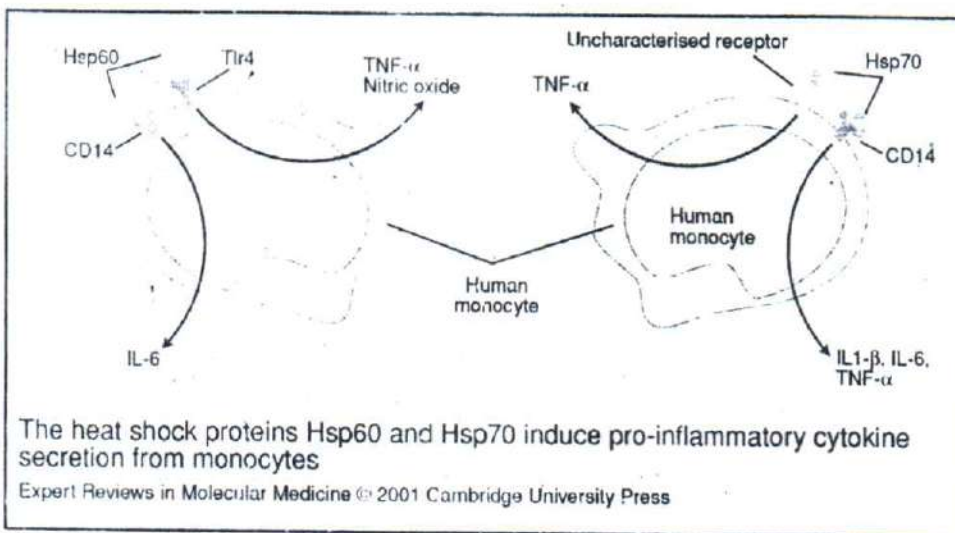
Spigelman dkk. Menyatakan bahwa sitokin TNF- $\alpha$ , mempunyai peranan langsung pada perkembangan resistensi insulin pada kegemukan, TNF- $\alpha$  dilaporkan menyebabkan gangguan ambilan glukosa yang dirangsang insulin pada jaringan otot dan sel-sel adipose dan menekan translokasi *glucose transporter 4* (GLUT 4). Jadi TNF- $\alpha$  berperan baik secara lokal maupun sistemik pada resistensi insulin yang berhubungan dengan obesitas.

Pada DM tipe 2 obesitas dianggap sebagai penyebab resistensi insulin karena kadar leptin plasma berkorelasi dengan total masa lemak tubuh. Ekspresi leptin lebih banyak ditemukan pada lemak subkutan. Hiperinsulinemia akut akan menurunkan kadar leptin, sebaliknya kadar leptin akan meningkat pada resistensi insulin dan hiperinsulinemia kronik (Merentek, 2006).

Peningkatan sekresi leptin (dan atau penurunan produksi adiponektin) oleh adiposit dapat berperan dalam akumulasi makrofag melalui stimulasi penarikan makrofag ke dalam jaringan adiposa, serta mempromosi adhesi makrofag pada sel endotel. Oleh karena itu dapat dipahami bahwa kerusakan fisik endotelium, yang disebabkan oleh perubahan ukuran dan radikal bebas sebagai konsekuensi dari lingkungan yang lipolitik, dapat juga memberi kontribusi pada jaringan makrofag jaringan adiposa menjadi aktif, maka makrofag tersebut akan menghasilkan berbagai sitokin, diantaranya IL-6, IL1b, TNF- $\alpha$ . Pengaktifan faktor proinflamasi tersebut pada gilirannya akan mengganggu fosforilasi reseptor insulin, sehingga reseptor insulin tidak dapat berfungsi secara optimal untuk berikatan dengan lepasan insulin dalam sirkulasi, dan menimbulkan keadaan klinis yang dikenal sebagai resistensi insulin. Oleh sebab itu disfungsi adiposit tersebut, atau lebih

dikenal sebagai “*sick fat cells*” pada gilirannya akan mengakibatkan resistensi insulin pada penderita dan diduga dengan pengaktifan faktor proinflamasi tersebut dapat menyebabkan gangguan keseimbangan antioksidan dan ROS (Lawrence GS, 2004).

Dengan kondisi hiperglikemia dan proinflamasi tersebut akan mengakibatkan kadar ROS akan meningkat pada DM yang belum terpapar OHB. Terapi OHB sendiri akan menyebabkan lebih meningkatnya kadar Hsp 70 sebagai respon dalam terhadap stresor radikal oksigen. Hsp 70 menyebabkan monosit dan makrofag lebih banyak memproduksi faktor proinflamasi (IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-15, TNF- $\alpha$  dan NO) yang berakibat kadar TNF- $\alpha$  di serum meningkat ( gambar 6.2) (Pockley G, 2001).



Gambar 6.2 Hsp 70 menyebabkan sekresi sitokin proinflamasi dari Monosit (Pockley G, 2001).

Peningkatan faktor proinflamasi ini akan menstimulasi faktor antiinflamasi seperti IL-10. Makrofag juga memaparkan banyak *heme oxygenase 1* (HO-1) dan *carbon monoxide* (CO) sebagai petanda umum dari

keadaan proinflamasi yang berlebihan tersebut, sehingga terjadi penurunan TNF- $\alpha$  yang sangat nyata. Penurunan TNF- $\alpha$  berakibat perbaikan fosforilasi *insulin receptor substrat-1* (IRS-1) melalui penurunan *protein kinase C* (PKC) (Qi C dan Pekala, 2000). Produksi antiinflamatori seperti IL-10 akan lebih meningkat. CO sendiri mempunyai peran sebagai antiinflamatori yaitu :

1. Mencegah agregasi platelet dan trombosis
2. Mengatur ekspresi *plasminogen activator inhibitor type 1* (PAI-1)
3. Mencegah apoptosis di beberapa tipe sel, termasuk sel endotel, fibroblas, hepatosit dan sel  $\beta$  pankreas (Calabrese, 2006).

### 6.2.3 Pemeriksaan Kadar SOD

Pada pemeriksaan kadar SOD pada kelompok OHB dan kelompok kontrol ternyata didapatkan peningkatan tidak bermakna. Pada kelompok kontrol terjadi juga peningkatan kadar SOD hari ke 5 kemungkinan efek dari OAD yang masih mereka minum.

Hiperglikemi dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas melalui beberapa mekanisme:

1. Peningkatan glukooautooksidasi yaitu kemampuan glukosa melakukan enolisasi menghasilkan oksigen molekuler yang tereduksi dan selanjutnya menghasilkan radikal bebas :

- anion superoksida ( $O_2^-$ )
- radikal hidroksil ( $OH^-$ )
- hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ )



Lima belas menit sesudah terpapar dengan glukosa konsentrasi tinggi, disfungsi endotel sudah mulai tampak akibat pengaruh aktivitas radikal bebas yang terbentuk secara cepat ( $O_2^-$ ) berpengaruh dalam inaktivasi NO yang fisiologis, menghambat aktifitas NOS secara langsung sehingga menghambat replikasi endotel pembuluh darah besar dan respon vasodilatasi terhadap NO berkurang. Sedangkan SOD mencegah hambatan replikasi endotel tersebut.

2. Pembentukan radikal bebas secara cepat pada kondisi hiperglikemi terjadi juga lewat *polyolpathway*. Glukosa dalam sel dapat diubah menjadi sorbitol dengan bantuan enzim *aldose reductase* (AR). Dalam keadaan normal konsentrasi sorbitol dalam sel rendah, sedang dalam keadaan hiperglikemi konsentrasi sorbitol meningkat. Sorbitol dengan bantuan enzim *sorbitol dehidrogenase* (SDH) menjadi fruktose. Degradasi sorbitol berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk di dalam sel, menyebabkan meningkatnya tekanan osmotik intra sel yang dapat merusak sel.

Peningkatan masuknya substrat melalui *polyolpathway* selain meningkatkan kadar sorbitol dan fruktose intra seluler, juga menurunkan rasio NADPH terhadap  $NADP^+$ , serta meningkatkan rasio NADH terhadap  $NAD^+$  sitosolik akibat hiperglikemi disebut sebagai *pseudohypoxia*, menghasilkan radikal bebas yang merupakan penyebab sekaligus akibat dari iskemia.

Meskipun superoksida ( $O_2^-$ ) ini sering merupakan awal terbentuknya radikal bebas dan dapat menghambat produksi dan memperpendek umur NO. Namun radikal hidroksil ( $OH$ ) sebagai salah satu hasil antara reaksi berantainya

lebih reaktif dan dengan cepat akan merusak molekul di dekatnya terutama sel-sel endotel (Soeatmadji, 1998).

Dengan terapi OHB akan menurunkan kadar gula darah melalui mekanisme peningkatan produksi Hsp 70 dan penurunan sekresi TNF- $\alpha$  tersebut di atas akan memperbaiki reseptor insulin maka glukosa masuk ke jaringan tubuh (skeletal, sel adipose dan hepatosit) sehingga kadar gula darah turun optimal, berakibat:

1. Radikal bebas menurun, iskemia menurun, sistem pertahanan antioksidan meningkat yang akan mengakibatkan kadar SOD meningkat
2. Aktifitas NO meningkat, suatu vasodilator endogen yang kuat
3. Pemberian O<sub>2</sub> sendiri pada terapi OHB akan meningkatkan sintesa ATP
4. Menurunkan komplikasi DM.

Aktivitas SOD meningkat pada terapi OHB juga dapat melalui mekanisme lain yaitu peningkatan aktivitas SOD pada fase respon adekuat sesuai dengan Efuni et.al. (1984) yang menyatakan bahwa tubuh yang mendapat paparan OHB akan mengalami perubahan. Ada 3 tingkat reaksi tubuh, yaitu :

1. Tingkat adaptasi, merupakan tingkat inisiasi terhadap paparan OHB. Ditandai dengan peningkatan kadar SOR, besarnya tiap individu sangat berbeda
2. Tingkat respon adekuat, merupakan tingkat kedua, ditandai dengan peningkatan aktivitas enzim antioksidan, yang merupakan mobilisasi sistem pertahanan tubuh
3. Tingkat respon inadeguat, terjadi setelah paparan OHB yang berkepanjangan dan intensif. Ditandai dengan peningkatan kadar SOR, yang merupakan diskoordinasi antara sistem pertahanan tubuh (Jain, 1996).

Pada fase adekuat akan terjadi peningkatan aktivitas SOD sehingga SOR menurun. Penurunan SOR akan memperbaiki transduksi sinyal sehingga transport ion meningkat menyebabkan mega kanal terbuka (perbaikan reseptor insulin). Hal ini mengakibatkan glukosa darah masuk jaringan tubuh sehingga gula darah darah turun (Widodo, 2003).

#### **6.2.4 Pemeriksaan Kadar Gula Darah**

Pada pemeriksaan kadar gula darah pada kelompok OHB ternyata didapatkan penurunan bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini sudah dijelaskan pada pembahasan sebelumnya.

### **6.3 Kondisi OHB Hari ke 10**

Dari hasil analisis penelitian didapatkan semua variabel tergantung (baik OHB hari ke 5 sampai ke 10 dan dari pra OHB sampai OHB hari 10 ) tidak mengalami perubahan yang bermakna sehingga tidak perlu dianalisis lebih lanjut. Sehingga yang dapat dianalisis dengan pola diskriminan hanya pra OHB sampai OHB hari ke 5 (P2) seperti uraian tersebut di atas.

#### **6.4 Hasil Penelitian Pola Diskriminan**

Melihat hasil penelitian di atas, terapi OHB akan memberikan hasil penurunan kadar gula darah yang optimal pada hari ke 5 dibanding sampai hari ke 10 karena :

1. Cenderung terjadi peningkatan kadar gula darah
2. Kadar SOD cenderung terjadi penurunan
3. Kadar Hsp 70 dan TNF- $\alpha$  tidak memberikan kontribusi yang bermakna.

**BAB 7**

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**BAB 7****KESIMPULAN DAN SARAN****7.1 Kesimpulan**

1. Paparan OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari, kadar gula darah pada DM tipe 2 menurun secara bermakna pada paparan hari ke 5 dibanding kadar awal. Setelah paparan hari ke 10, kadar gula darah mulai meningkat secara tidak bermakna dibandingkan hari ke 5, tetapi masih dibawah kadar gula darah awal kelompok OHB dan pada hari ke 5 kelompok kontrol. Perbandingan perubahan kadar gula darah, kelompok OHB lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol.
2. Paparan OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari, kadar SOD pada DM tipe 2 meningkat secara tidak bermakna pada paparan hari ke 5 dibanding kadar SOD awal. Kadarnya menurun secara tidak bermakna pada hari ke 10 dibandingkan kadar SOD awal dan hari ke 5.
3. Paparan OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari, kadar Hsp 70 meningkat secara tidak bermakna pada hari ke 5 dan hari ke 10 dibandingkan kadar Hsp awal. Perbandingan perubahan kadar Hsp 70 meningkat secara tidak bermakna dibandingkan kelompok kontrol .

4. Paparan OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari, kadar TNF- $\alpha$  meningkat secara tidak bermakna pada hari ke 5 dibanding kadar TNF- $\alpha$  awal, kemudian menurun secara tidak bermakna pada hari ke 10 dibanding kadar TNF- $\alpha$  hari ke 5 dan awal. Perubahan kadar TNF- $\alpha$  meningkat secara tidak bermakna dibanding kelompok kontrol.

5. Paparan OHB 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 3x30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa lebih efektif dan efisien jika dilakukan hanya dalam 5 hari berturut-turut dalam menurunkan kadar gula darah.

## 7.2 Saran

1. Perlu penelitian serupa dengan jumlah sampel lebih banyak.
2. Perlu penelitian serupa dengan variasi dosis lebih banyak
3. Perlu perhatian lebih besar terhadap faktor eksternal.

**DAFTAR PUSTAKA**



## DAFTAR PUSTAKA

- Amin M, 1996. Penyakit Paru Obstruktif Menahun : Polusi Udara, Rokok dan Alfa-1 Antitripsin, Airlangga University Press, 1996.
- Ansari KA, Wilson M, Scater GE, Haglin JJ, Kaplan E, 1986. Hyperbaric Oxygen and Erythrocyt Antioxidant Enzymes in Multiple Sclerosis Patients. *Acta Neurol Scand.* Aug, 74 ( 2 ) : 156-160
- Alam PS, 2001. Pengaruh Oksigenasi Hiperbarik Terhadap Kadar IFN- $\gamma$  dan Immunoglobulin G Serum Mencit. Tesis Mahasiswa S2 Hiperbarik, Pasca Sarjana Unair Surabaya
- Albar Z, 2007. Heat Shock Protein. Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi, Jakarta
- Arya R, 2007. Heat Shock Genes-Integrating Cell Survival and Death. Cytogenetics Laboratory, Department of Zoology, Banaras Hindu University, Varanasi, India.
- Avongsa M, 2002. Pengaruh Terapi Oksigen Hiperbarik Terhadap Kadar Interleukin 4 dan Immunoglobulin E Pada Rhinitis Alergica. Tesis Mahasiswa S2 Hiperbarik, Pasca Sarjana Unair Surabaya
- Baiborodov BD, Savel'eva T.V. , Prokopenko Vm, Evsiukova, Arutiu AV, 1996... Effect of Hyperbaric Oxygenation on Free Radical Oxidation and Antioxidant System of Bool in The Who Had Acute Hypoxia at Birth, *Anesteziol Reanimatol*, Nov-Dec ; (6) :56-8
- Calabrese, 2006. Redox Regulation of Heat Shock Protein Expression by Signaling Involving Nitric Oxide dan Carbon Monoxide: Relevance to Brain Aging, Neurodegenerative Disorders, and Longevity. Section of Biochemistry and Molecular Biology, University of Catania, Italy.
- Calia P, Quarantiello A, 1996. DM : Diagnosis, Epidemiology, Therapy and Long T Complications. In ( Oriani G, Maroni TM, Wattel F, eds). *Handbook of Hyprbaric Medicine*. Berlin : Springer, p 531-542
- Davis S.N., 2007. Insulin, Oral Hypoglycemic Agents, and The Pharmacology of the Endocrine Pancreas. *Basic and Clinical Endocrinology*. University of California, San Fransisco.

- Dedov II, Abusuev SA, Muslimoma ZZ, Dreval AV, 1994. Optimal Frequency of Hyperbaric Oxygenation Course in Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *Problem Endocrinology Moskow* 40 (2) : 28-31
- Fedoroff N, 2006. Redox Regulatory Mechanisms in Cellular Stress Responses. Huck Institutes of the Life Sciences and Biology Department, University Park, USA.
- Foster DW, 1998. Diabetes Mellitus. *Williams Text Book of Endocrinology*, 9<sup>th</sup> edition, USA : WB. Saunders Co., p 991-1037
- Foster DW, 1998. Diabetes Mellitus. In : Harrison. *Harrison's Principle of Internal Medicine*, 14<sup>th</sup> ed. New York : Mc Graw-Hill, p 2060-2070
- Gao C, Yang J, Ge H, 1996. Effect of Hyperbaric Oxygenation of Different Pressure in Rabbits Free Radical, *Proceeding of International Joint Meeting Hyperbaric and Underwater Medicine*, 175-180
- Guritno M, 2005 A. Hyperbaric Oxygen Therapy In Treatment Of Diabetic Foot. The Indonesian Orthopaedic Association 50<sup>th</sup> Continuing Orthopaedic Association. Mataram, march 4-5 2005.
- Guyton AJ, 1992. *Text Book of Medical Physiology*, 5<sup>th</sup> ed, WB Saunders Co., USA, p 45
- Harabin AL, Brausted JC, Flynn ET, 1990. Respons of Antioxidant Enzymes to Intermitten and Continuous Hyperbaric Oxygen, *J.Appl. Physiol*, Jul., 69 (1) : 328-350
- Halliwell B, 1995. Free Radical and Antioxidant : a personal view. *Nutr. Rev.* 52 : p 253-265
- Halliwell B, Gutteridge JMC, 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford, UK : Oxford University Press
- Hendromartono, 1999. Consensus on The Management of Diabetes Mellitus ( Perkeni 1998 ). *Naskah Lengkap Surabaya Diabetes UPDATE-VI 1999*. Surabaya : Pusat Diabetes dan NUtrisi RSUD Dr. Soetomo – FK Unair, hal. 1-14
- Higgins and Klibaum, 1985. *Introduction to Randomized Clinical Trials*. California : Family Health International Research, p 27-33
- Ishihara A, 2007. Hyperbaric Exposure In Rat Muscle And Nerve. *Laboratory Of Metabolism, Graduate School Of Human Genomic Drug Discovery Science, Kyoto University, Japan*

- Jain KK, 1996. Text Book of Hyperbaric Medicine. Toronto :Hogrefe and Huber, p 12-23, p 61-64, p331-334
- Jain KK., 1999. Oxygen Toxicity, Textbook of Hyperbaric Medicine 3<sup>rd</sup> Revised Edition, Hogrefe and Huber Publishers Inc., p 64-81
- Kindwall EP, Whelan HT, 1999. The Physiologic Effects of Hyperbaric Oxygenation, Hyperbaric Medicine Practice 2<sup>nd</sup>, Best Publishing Co., p 58-60
- Lawrence GS, 2004. Kadar Adiponektin Rendah Pada Toleransi Glukosa Terganggu : Implikasi Vaskuler Awal, Bagian Patologi Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar
- Lebovitz, 1999. Type 2 Diabetes : An Overview. Clin Chem 45 ( Apt 2 ) p 1339-45
- Mahdi H, Sasongko, Siswanto, Hinarya D, Soepriyoto, Setiawan W, Hanjaya M, Guntoro, Susanto A, 1999. Ilmu Kesehatan Bawah Air dan Hiperbarik. Lembaga Kesehatan Keangkatan Lautan ( LAKESLA ). Surabaya, p 123
- Moncada S, Higgs A, 1993. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 329; 2002-2012
- Marks, 2000. The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. University of Colorado Health Sciences Center, Denver, Colorado
- Merentek, E., 2006. Resistensi Insulin pada Diabetes Mellitus Tipe 2. Cermin Dunia Kedokteran No. 150, 2006. Poliklinik Endokrin Metabolik, Bagian Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Gowa, Makassar.
- Ming H, Yoncun W, Qinli C, Jianjun W, Li P, Xiahua Y, Jifang Y, Qiuxia Y, 1996. Dynamic Observation of SOD and MDA in Serum Before and After Hyperbaric Oxygen Treatment, Departement of Hyperbaric Oxygen – Jihan Military Area General Hospital China 250031
- Mogil'nitskaia LV, Prokov'ev VN, Morgulis GL, 1996. Free Radical Proseses in The Rat Blood During Hyperbaric Oxygenation and in The Post Hyperoxic Period, WMJ Jan-Feb ; 68(1): 96-100
- Mudjiono, 2000. Efek Oksigen Bertekanan Tinggi Terhadap Kadar Insulin Darah Dan Glukosa Darah. Tesis Pascasarjana Unair, Surabaya
- Net Nutritionist.com. File:///NIDDM/ Nutrition and Health Articles-Diabetes Mellitus non Insulin Dependent ( NIDDM ) Page 1

- Kindwall EP, Whelan HT, 1999. The Physiologic Effects of Hyperbaric Oxygenation, *Hyperbaric Medicine Practice* 2<sup>rd</sup>, Best Publishing Co., p 58
- Kurucz I, MorvaA, Vaag A et.al, 2002. Decreased Expression of Heat Shock Protein 72 In Skeletal Muscle of Patients With Type 2 Diabetes Correlates With Insulin Resistance, Departement of Cellular Biology, BIOREX Research and Development, Veszperm, Hungary.
- Octa, 2006. Diabetes Mellitus. File: // F: NIDDM/pus-2.htm
- Oriani G, Marroni A, Wattel F, 1996. Handbook on Hyperbaric Medicine. Berlin : Springer, p 1-25
- Packer L, Rosen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A, 2000. Role of Oxidative Stress and Antioxidants on Adhesion Moleculars and Diabetic Microangiopathy, *Anti Oxidants in Diabetes Management*. Marcel Dekker Inc 270 Madison Avenue. New York, NY 10016, p 205-213
- Pockley G, 2001. Heat Shock Protein in Health and Disease: Therapeutic Targets or Therapeutic Agents. Reader in Immunobiology, Division of Clinical Sciences (North), Clinical Sciences Centre (University of Sheffield), Northern General Hospital, Herries Road, Sheffield, S5 7 AU,UK
- Price, 1995. Evaluation of Glucose Monitoring Devices in The Hyperbaric Chamber. *Military Medicine* 160 ( 3 ) : p143-146
- Qi, C dan Pekala, PH, 2000. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Induced Insulin Resistance in Adipocytes. Minireview. Department of Biochemistry, School of Medicine, East Carolina University, Greenville, North Carolina 27858
- Rosdiana N, Jusman SWA, 2007. Heat Shock Protein dan Efek Proteksinya Terhadap Miokardium. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Saito K, 1991. Suppressive Effect Of Hyperbaric Oxygenation On Immune Responses of Normal And Autoimmune Mice. *Clin Exp Immunol*; 86(2) : 332-7
- Satria, Y.Y, 2001. Pengaruh Oksigen Hiperbarik Terhadap Aktifitas Radikal Bebas Darah Pra Usia Lanjut. Tesis Mahasiswa S2 Hiperbarik. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Saunasari R, 2006. Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas. Artikel Iptek : Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan.

- Shafer, 1992. Federal Nursing Service Award Recipient. The Effect of Increased Atmospheric Pressure on Glucose Reagent Strip Accuracy. *Military Medicine* 157 ( 4 ) :p 162-165
- Soeatmadji D.W., 1998. Free Radicals And Diabetes Mellitus: Clinical Applications. Naskah Lengkap Surabaya Diabetes Update-IV.Pusat Diabetes dan Nutrisi RSUD Dr. Soetomo-FK Unair, hal 23-32
- Soeatmadji D.W.,1998. Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM. *Medica % (24)*:318-325
- Suyono, 1996. Masalah DM di Indonesia, Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi 3 Jakarta : Balai Penerbit FKUI
- Suryohudoyo P, 1995. Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas. Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan , p 1-7
- Thibaut G, Chemla JM, Franck P, Durrand A, Dubois F, Nicolas B, Belleville F, 1996. Hyperbaric Oxygen Therapy : Free Radical and Status of Antioxidant Defences. In ( Maroni A,eds. ). *Proceeding of International Joint Meeting on Hyperbaric and Underwater Medicine*. Instituto Ortopedico Galeazzi Milano, Italy. Sept 4-8
- Thom SR, 1994. Beneficial and Toxic of Oxidative Stres. In ( Wattel F, Mathieu D, eds. ). *Proceeding of the 1<sup>st</sup> European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine*. Lille ( France ), Sept.19-21, p 453-458
- Tjakropawiro A, 1994. Beberapa Segi Praktis Tentang DM : Bagian Ilmu Penyakit, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya
- Tjakropawiro A, 1997. Diabetes Update1997 A. Naskah Lengkap Surabaya Diabetes Update-II 1997, Surabaya ; Pusat Diabetes dan Nutrisi RSUD Dr. Soetomo-FK Unair, hal 1-21
- Tjakropawiro, 2000. Diabetik Neuropati : dari Basis ke Klinik. Pusat Diabetes dan Nutrisi FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.File [://F:/NIDDM/pus-2.htm](file:///F:/NIDDM/pus-2.htm).page 1
- Waspadji S, 1996. Gambaran Klinik Diabetes Mellitus. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam 3<sup>rd</sup> ed, Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hal 597-600
- Weindruch R, 1996. Caloric Restriction and Aging. *Scintefic American*, Januari 1996

- Weisz G, Lavy A, Melamed Y, Rubin D, Eidelman S, Pollack S. 1997. Modification Of In Vivo And In Vitro TNF- $\alpha$ , IL-1, And IL-6 Secretion By Treatment In Patients With Perianal Crohn' Disease. *J Clin Immunol*; 17(2):154-159
- Wijayanto, 2000. Pengaruh Oksigen Hiperbarik Terhadap Kadar HbA1c dan Gula Darah. Tesis, Pasca Sarjana Unair, Surabaya
- Widodo, 2003. Calsium Dan Generasi Spesies Oksigen Reaktif Pada Fungsi Mitokondria, Basic Molecular Biology Course On Mithochondrial Medicine, Buku Kumpulan Makalah, Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang, p 15-31
- Wijayanto, 2000. Pengaruh Oksigen Hiperbarik Terhadap Kadar HbA1c dan Gula Darah. Tesis, Pasca Sarjana Unair, Surabaya.
- Winarsi H, 2003. Status Antioksidan Wanita Premenopause yang Diberi Minuman Suplemen ' Susumeno'. Prosiding Seminar Nasional PATPI, Yogyakarta, 22-23 Juli 2003
- Winarsi H, 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan, Yogyakarta : Penerbit Kanisius
- Witarto, 2005. Diabetes, Inspirator Kemajuan Iptek. Artikel Iptek – Bidang Biologi, Pangan, dan Kesehatan
- Young IS. and Woodside, 2001. Antioxidants in Health and Disease, *J Clinical Pathology* 2001 ; 54 : 176-186
- Youngson R., 1994. The Antioxidant Health Plan, How to Beat the Effects of Free Radicals. Thorsons, London, 1994
- Zainuddin, M., 2000. Metodologi Penelitian. Program Pascasarjana Unair Surabaya, Pp : 38-52.
- Zakaria F.R., Susanto, Hartoyo, 2000. Pengaruh Konsumsi Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe* ) terhadap kadar Malonaldehida dan Vitamin E Plasma pada Mahasiswa Pesantren Ulil Albaab Kedung Badak, Bogor. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 11(1) : 36

DAFTAR LAMPIRAN

## Lampiran 1

## JADWAL PENELITIAN

Penelitian ini direncanakan mulai bulan Juli 2007 sampai dengan bulan Juli 2008  
dengan perincian sebagai berikut :

Rincian Penelitian	Nop	Des	Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	Juni	Juli	Agst
<u>Persiapan :</u>										
a. Konsultasi	X	X								
b. Pembuatan proposal			X	X	X					
<u>Pelaksanaan penelitian :</u>										
a. Pengumpulan data						X	X			
b. Analisa data							X	X		
<u>Evaluasi :</u>										
a. Penilaian tesis								X	X	
b. Perbaikan/penggandaan										X



## Lampiran 2

## BIAYA PENELITIAN

## RINCIAN BIAYA PENELITIAN DAN PENULISAN TESIS

A. Biaya Administrasi		
1. Pembelian alat tulis kantor		: Rp. 250.000,-
2. Pembuatan proposal		: Rp. 250.000,-
B. Biaya Pelaksanaan Penelitian		
1. Pemeriksaan Hsp 70	78 x Rp.130.000	: Rp.10.140.000,-
1. Pemeriksaan SOD	78 x Rp. 30.000	: Rp. 2.340.000,-
2. Pemeriksaan TNF- $\alpha$	78 x Rp.130.000	: Rp.10.140.000,-
2. Pemeriksaan gula darah	78 x Rp. 10.000	: Rp. 780.000,-
3. Biaya OHB	39 x Rp.160.000	: Rp. 6.240.000,-
4. Biaya alat penunjang		: Rp. 300.000,-
5. Biaya tenaga pelaksana		: Rp. 300.000,-
C. Pengolahan Data		: Rp. 500.000,-
D. Revisi tesis dan penggandaan		: Rp. 300.000,-
E. Dokumentasi		: Rp. 200.000,-
F. Transportasi	4 x Rp. 250.000	: <u>Rp. 1.000.000,-</u>
Total biaya		: Rp.32.740.000,-

## Lampiran 3

**ETHICAL CLEARANCE**

Setelah mendapat penjelasan tentang isi dan rencana pelaksanaan penelitian yang berjudul :

“ EFEK OKSIGENASI HIPERBARIK TERHADAP PENINGKATAN ANTIOKSIDAN PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2”

yang akan dilaksanakan oleh :

N a m a : dr. Titut Harnanik  
Status : Mahasiswa Pascasarjana Universitas Airlangga  
NIM : 090610110/M  
Program Studi : Ilmu Kedokteran Dasar  
Minat Studi : Ilmu Kesehatan Penyelaman dan Hiperbarik

Sebagai syarat akhir studi (tesis), maka berdasar pertimbangan etika medis dan etika kemanusiaan dapat dinyatakan bahwa pada penelitian tersebut tidak terdapat pelanggaran etika.

Surabaya, 23 Juni 2008

Menyetujui,

Kepala Lakesla Drs. Med. R. Rijadi S., Phys



## Lampiran 4

FORMULIR PERSETUJUAN

## Surat Persetujuan Uji Klinik

N a m a : .....  
 U m u r : .....  
 Jenis Kelamin : .....  
 A l a m a t : .....  
 No. KTP : .....  
 Pekerjaan : .....

Setelah mendapat keterangan secukupnya serta menyadari manfaat dan resiko penelitian yang berjudul :

“ EFEK OKSIGENASI HIPERBARIK TERHADAP PENINGKATAN  
 AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS  
 TIPE 2”

Dengan sukarela menyetujui diikutsertakan dalam penelitian di atas, dengan catatan apabila suatu waktu merasa dirugikan dalam bentuk apapun, berhak membatalkan persetujuan ini.

Surabaya, .....2008

Mengetahui  
 Penanggung Jawab Penelitian

(dr. Titut Harnanik )

Yang menyetujui  
 Peserta Uji Klinik

(.....)

## Lampiran 5 Data Hasil Penelitian Variabel Moderator

## Oneway

## Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Umur	Perlakuan	13	56.08	7.365	2.043	51.63	60.53	43	65
	Kontrol	13	58.54	6.501	1.803	54.61	62.47	46	65
	Total	26	57.31	6.921	1.357	54.51	60.10	43	65
Berat Badan	Perlakuan	13	66.85	6.866	1.904	62.70	71.00	56	81
	Kontrol	13	63.77	8.298	2.301	58.75	68.78	53	88
	Total	26	65.31	7.625	1.495	62.23	68.39	53	88
Tinggi Badan	Perlakuan	13	165.62	5.042	1.398	162.57	168.66	156	173
	Kontrol	13	163.08	5.408	1.500	159.81	166.34	157	175
	Total	26	164.35	5.284	1.036	162.21	168.48	156	175
BMI	Perlakuan	13	.2432	.01727	.00479	.2328	.2537	.22	.27
	Kontrol	13	.2391	.02665	.00739	.2230	.2552	.20	.29
	Total	26	.2412	.02210	.00433	.2322	.2501	.20	.29
HbA1c	Perlakuan	13	7.0692	.92771	.25730	6.5086	7.6298	5.50	9.50
	Kontrol	13	6.7846	1.02131	.28326	6.1674	7.4018	5.20	8.90
	Total	26	6.9289	.96687	.18962	6.5364	7.3175	5.20	9.50

## Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Umur	.326	1	24	.574
Berat Badan	.000	1	24	.996
Tinggi Badan	.000	1	24	1.000
BMI	1.936	1	24	.177
HbA1c	1.135	1	24	.297

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Umur	Between Groups	39.385	1	39.385	.816	.375
	Within Groups	1158.154	24	48.256		
	Total	1197.538	25			
Berat Badan	Between Groups	61.538	1	61.538	1.061	.313
	Within Groups	1392.000	24	58.000		
	Total	1453.538	25			
Tinggi Badan	Between Groups	41.885	1	41.885	1.532	.228
	Within Groups	656.000	24	27.333		
	Total	697.885	25			
BMI	Between Groups	.000	1	.000	.222	.641
	Within Groups	.012	24	.001		
	Total	.012	25			
HbA1c	Between Groups	.527	1	.527	.553	.464
	Within Groups	22.845	24	.952		
	Total	23.371	25			

## Lampiran 6 Data Hasil Penelitian Pra OHB

**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

**Descriptive Statistics**

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
HSP70_1	Perlakuan	1.66892	.308267	13
	Kontrol	1.90031	.554333	13
	Total	1.78462	.455006	26
TNF-a_1	Perlakuan	.42592	.044927	13
	Kontrol	.45915	.068154	13
	Total	.44254	.059038	26
SOD_Er_1	Perlakuan	1.05862	.150333	13
	Kontrol	1.24246	.486557	13
	Total	1.15054	.365062	26
GULA_D_1	Perlakuan	179.85	72.433	13
	Kontrol	192.15	84.590	13
	Total	186.00	77.410	26

**Box's Test of Equality of Covariance Matrices<sup>a</sup>**

Box's M	28.702
F	2.346
df1	10
df2	2753.785
Sig.	.009

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests<sup>a</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>b</sup>
Intercept	Pillai's Trace	.990	523.773 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2095.092	1.000
	Wilks' Lambda	.010	523.773 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2095.092	1.000
	Hotelling's Trace	99.766	523.773 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2095.092	1.000
	Roy's Largest Root	99.766	523.773 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2095.092	1.000
KEL	Pillai's Trace	.211	1.406 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.266	.211	5.625	.360
	Wilks' Lambda	.789	1.406 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.266	.211	5.625	.360
	Hotelling's Trace	.268	1.406 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.266	.211	5.625	.360
	Roy's Largest Root	.268	1.406 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.266	.211	5.625	.360

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

	F	df1	df2	Sig.
HSP70_1	3.398	1	24	.078
TNF-a_1	2.955	1	24	.098
SOD_Er_1	4.327	1	24	.048
GULA_D_1	.017	1	24	.897

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>a</sup>
Corrected Model	HSP70_1	.348 <sup>b</sup>	1	.348	1.730	.201	.067	1.730	.244
	TNF-a_1	.007 <sup>c</sup>	1	.007	2.154	.155	.082	2.154	.291
	SOD_Er_1	.220 <sup>d</sup>	1	.220	1.694	.205	.066	1.694	.239
	GULA_D_1	984.615 <sup>e</sup>	1	984.615	159	.694	.007	159	.067
Intercept	HSP70_1	82.806	1	82.806	411.650	.000	.945	411.650	1.000
	TNF-a_1	5.092	1	5.092	1528.307	.000	.985	1528.307	1.000
	SOD_Er_1	34.417	1	34.417	265.424	.000	.917	265.424	1.000
	GULA_D_1	889496.000	1	889496.000	145.057	.000	.858	145.057	1.000
KEL	HSP70_1	.348	1	.348	1.730	.201	.067	1.730	.244
	TNF-a_1	.007	1	.007	2.154	.155	.082	2.154	.291
	SOD_Er_1	.220	1	.220	1.694	.205	.066	1.694	.239
	GULA_D_1	984.615	1	984.615	159	.694	.007	159	.067
Error	HSP70_1	4.628	24	.201					
	TNF-a_1	.080	24	.003					
	SOD_Er_1	3.112	24	.130					
	GULA_D_1	148823.385	24	6200.974					
Total	HSP70_1	87.962	26						
	TNF-a_1	5.179	26						
	SOD_Er_1	37.749	26						
	GULA_D_1	1049304.000	26						
Corrected Total	HSP70_1	5.176	25						
	TNF-a_1	.067	25						
	SOD_Er_1	3.332	25						
	GULA_D_1	149808.000	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .067 (Adjusted R Squared = .028)

c. R Squared = .082 (Adjusted R Squared = .044)

d. R Squared = .066 (Adjusted R Squared = .027)

e. R Squared = .007 (Adjusted R Squared = -.035)

## Lampiran 7 Data Hasil Penelitian OHB Hari ke 5

**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
KEL	1	Perlakuan	13
	2	Kontrol	13

**Descriptive Statistics**

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
HSP70_2	Perlakuan	1.68169	.357177	13
	Kontrol	1.85515	.603889	13
	Total	1.76842	.494071	26
TNF-a_2	Perlakuan	.42969	.040244	13
	Kontrol	.44662	.059283	13
	Total	.43815	.050386	26
SOD_Er_2	Perlakuan	2.28062	.613323	13
	Kontrol	2.55254	.443764	13
	Total	2.41658	.542502	26
GULA_D_2	Perlakuan	106.23	27.839	13
	Kontrol	188.92	80.023	13
	Total	147.58	72.275	26

**Box's Test of Equality of Covariance Matrices<sup>a</sup>**

Box's M	23.126
F	1.890
df1	10
df2	2753.785
Sig.	.042

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Test<sup>c</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>a</sup>
Intercept	Pillai's Trace	.990	519.582 <sup>c</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2078.327	1.000
	Wilks' Lambda	.010	519.582 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2078.327	1.000
	Hotelling's Trace	98.968	519.582 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2078.327	1.000
	Roy's Largest Root	98.968	519.582 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.990	2078.327	1.000
KEL	Pillai's Trace	.395	3.431 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.026	.395	13.723	.761
	Wilks' Lambda	.605	3.431 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.026	.395	13.723	.761
	Hotelling's Trace	.653	3.431 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.026	.395	13.723	.761
	Roy's Largest Root	.653	3.431 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.026	.395	13.723	.761

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>b</sup>

	F	df1	df2	Sig.
HSP70_2	3.426	1	24	.077
TNF-a_2	3.151	1	24	.089
SOD_Er_2	1.579	1	24	.221
GULA_D_2	5.050	1	24	.034

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>a</sup>
Corrected Model	HSP70_2	.196 <sup>e</sup>	1	.196	.795	.382	.032	.795	.137
	TNF-a_2	.002 <sup>e</sup>	1	.002	.725	.403	.029	.725	.129
	SOD_Er_2	.481 <sup>d</sup>	1	.481	1.677	.208	.065	1.677	.238
	GULA_D_2	44447.115 <sup>a</sup>	1	44447.115	12.383	.002	.340	12.383	.921
Intercept	HSP70_2	81.310	1	81.310	330.357	.000	.932	330.357	1.000
	TNF-a_2	4.991	1	4.991	1944.473	.000	.988	1944.473	1.000
	SOD_Er_2	151.836	1	151.836	529.884	.000	.957	529.884	1.000
	GULA_D_2	566252.654	1	566252.654	157.758	.000	.868	157.758	1.000
KEL	HSP70_2	.196	1	.196	.795	.382	.032	.795	.137
	TNF-a_2	.002	1	.002	.725	.403	.029	.725	.129
	SOD_Er_2	.481	1	.481	1.677	.208	.065	1.677	.238
	GULA_D_2	44447.115	1	44447.115	12.383	.002	.340	12.383	.921
Error	HSP70_2	5.907	24	.246					
	TNF-a_2	.062	24	.003					
	SOD_Er_2	6.877	24	.287					
	GULA_D_2	86145.231	24	3589.385					
Total	HSP70_2	67.413	26						
	TNF-a_2	5.055	26						
	SOD_Er_2	156.194	26						
	GULA_D_2	696845.000	26						
Corrected Total	HSP70_2	6.103	25						
	TNF-a_2	.063	25						
	SOD_Er_2	7.368	25						
	GULA_D_2	130592.346	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .032 (Adjusted R Squared = -.008)

c. R Squared = .029 (Adjusted R Squared = -.011)

d. R Squared = .065 (Adjusted R Squared = .026)

e. R Squared = .340 (Adjusted R Squared = .313)



## Lampiran 8 Data Hasil Penelitian OHB Hari ke 10

**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

**Descriptive Statistics**

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
HSP70_3	Perlakuan	1.70715	.269761	13
	Kontrol	1.87446	.587238	13
	Total	1.79081	.455780	26
TNF-a_3	Perlakuan	.40500	.040594	13
	Kontrol	.42708	.047135	13
	Total	.41604	.044543	26
SOD_Er_3	Perlakuan	2.11469	.560017	13
	Kontrol	2.55415	.326150	13
	Total	2.33442	.501806	26
GULA_D_3	Perlakuan	115.31	44.808	13
	Kontrol	167.23	41.393	13
	Total	141.27	49.871	26

**Box's Test of Equality of Covariance Matrices<sup>a</sup>**

Box's M	17.939
F	1.466
df1	10
df2	2753.785
Sig.	.146

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Test<sup>f</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>g</sup>
Intercept	Pillai's Trace	.993	745.388 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.993	2981.552	1.000
	Wilks' Lambda	.007	745.388 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.993	2981.552	1.000
	Hotelling's Trace	141.979	745.388 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.993	2981.552	1.000
	Roy's Largest Root	141.979	745.388 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.993	2981.552	1.000
KEL	Pillai's Trace	.542	6.204 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.002	.542	24.815	.962
	Wilks' Lambda	.458	6.204 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.002	.542	24.815	.962
	Hotelling's Trace	1.182	6.204 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.002	.542	24.815	.962
	Roy's Largest Root	1.182	6.204 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.002	.542	24.815	.962

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>h</sup>

	F	df1	df2	Sig.
HSP70_3	4.956	1	24	.036
TNF-a_3	.359	1	24	.554
SOD_Er_3	5.813	1	24	.024
GULA_D_3	.010	1	24	.920

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>i</sup>
Corrected Model	HSP70_3	.182 <sup>a</sup>	1	.182	.871	.360	.035	.871	.146
	TNF-a_3	.003 <sup>c</sup>	1	.003	1.637	.213	.064	1.637	.233
	SOD_Er_3	1.255 <sup>d</sup>	1	1.255	5.978	.022	.199	5.978	.850
	GULA_D_3	17524.038 <sup>e</sup>	1	17524.038	9.419	.005	.282	9.419	.837
Intercept	HSP70_3	83.382	1	83.382	399.319	.000	.943	399.319	1.000
	TNF-a_3	4.500	1	4.500	2325.985	.000	.990	2325.985	1.000
	SOD_Er_3	141.688	1	141.688	674.715	.000	.966	674.715	1.000
	GULA_D_3	518881.885	1	518881.885	278.887	.000	.921	278.887	1.000
KEL	HSP70_3	.182	1	.182	.871	.360	.035	.871	.146
	TNF-a_3	.003	1	.003	1.637	.213	.064	1.637	.233
	SOD_Er_3	1.255	1	1.255	5.978	.022	.199	5.978	.850
	GULA_D_3	17524.038	1	17524.038	9.419	.005	.282	9.419	.837
Error	HSP70_3	5.011	24	.209					
	TNF-a_3	.046	24	.002					
	SOD_Er_3	5.040	24	.210					
	GULA_D_3	44653.077	24	1860.545					
Total	HSP70_3	88.575	26						
	TNF-a_3	4.550	26						
	SOD_Er_3	147.983	26						
	GULA_D_3	581059.000	26						
Corrected Total	HSP70_3	5.193	25						
	TNF-a_3	.050	25						
	SOD_Er_3	6.295	25						
	GULA_D_3	62177.115	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .035 (Adjusted R Squared = -.005)

c. R Squared = .064 (Adjusted R Squared = .025)

d. R Squared = .199 (Adjusted R Squared = .166)

e. R Squared = .282 (Adjusted R Squared = .252)

## Lampiran 9 Data Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 5

**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

**Descriptive Statistics**

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
D_(HSP2-HSP1)	Perlakuan	.01277	.283695	13
	Kontrol	-.04515	.203200	13
	Total	-.01619	.243564	26
D_(TNFa2-TNFa1)	Perlakuan	.00377	.036394	13
	Kontrol	-.01254	.054323	13
	Total	-.00438	.046058	26
D_(SOD2-SOD1)	Perlakuan	1.22200	.662200	13
	Kontrol	1.31008	.668198	13
	Total	1.26604	.653311	26
D_(GULA2-GULA1)	Perlakuan	-73.6154	57.63179	13
	Kontrol	-3.2308	40.71681	13
	Total	-38.4231	60.64729	26

**Box's Test of Equality of Covariance Matrices<sup>a</sup>**

Box's M	6.878
F	.562
df1	10
df2	2753.785
Sig.	.846

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests<sup>a</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>b</sup>
Intercept	Pillai's Trace	.827	25.179 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.000	.827	100.717	1.000
	Wilks' Lambda	.173	25.179 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.827	100.717	1.000
	Hotelling's Trace	4.796	25.179 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.827	100.717	1.000
	Roy's Largest Root	4.796	25.179 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.827	100.717	1.000
KEL	Pillai's Trace	.430	3.953 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.015	.430	15.812	.825
	Wilks' Lambda	.570	3.953 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.015	.430	15.812	.825
	Hotelling's Trace	.753	3.953 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.015	.430	15.812	.825
	Roy's Largest Root	.753	3.953 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.015	.430	15.812	.825

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

	F	df1	df2	Sig.
D_(HSP2-HSP1)	1.990	1	24	.171
D_(TNFa2-TNFa1)	1.091	1	24	.307
D_(SOD2-SOD1)	.002	1	24	.968
D_(GULA2-GULA1)	1.108	1	24	.303

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>a</sup>
Corrected Model	D_(HSP2-HSP1)	.022 <sup>b</sup>	1	.022	.358	.555	.015	.358	.089
	D_(TNFa2-TNFa1)	.002 <sup>c</sup>	1	.002	.809	.377	.033	.809	.139
	D_(SOD2-SOD1)	.050 <sup>d</sup>	1	.050	.114	.739	.005	.114	.062
	D_(GULA2-GULA1)	32200.962 <sup>e</sup>	1	32200.962	12.934	.001	.350	12.934	.932
Intercept	D_(HSP2-HSP1)	.007	1	.007	.112	.741	.005	.112	.062
	D_(TNFa2-TNFa1)	.000	1	.000	.234	.633	.010	.234	.075
	D_(SOD2-SOD1)	41.674	1	41.674	94.179	.000	.797	94.179	1.000
	D_(GULA2-GULA1)	38384.654	1	38384.654	15.418	.001	.391	15.418	.964
KEL	D_(HSP2-HSP1)	.022	1	.022	.358	.555	.015	.358	.089
	D_(TNFa2-TNFa1)	.002	1	.002	.809	.377	.033	.809	.139
	D_(SOD2-SOD1)	.050	1	.050	.114	.739	.005	.114	.062
	D_(GULA2-GULA1)	32200.962	1	32200.962	12.934	.001	.350	12.934	.932
Error	D_(HSP2-HSP1)	1.461	24	.061					
	D_(TNFa2-TNFa1)	.051	24	.002					
	D_(SOD2-SOD1)	10.620	24	.442					
	D_(GULA2-GULA1)	59751.385	24	2489.641					
Total	D_(HSP2-HSP1)	1.490	26						
	D_(TNFa2-TNFa1)	.054	26						
	D_(SOD2-SOD1)	52.345	26						
	D_(GULA2-GULA1)	130337.000	26						
Corrected Total	D_(HSP2-HSP1)	1.483	25						
	D_(TNFa2-TNFa1)	.053	25						
	D_(SOD2-SOD1)	10.670	25						
	D_(GULA2-GULA1)	91952.346	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .015 (Adjusted R Squared = -.026)

c. R Squared = .033 (Adjusted R Squared = -.008)

d. R Squared = .005 (Adjusted R Squared = -.037)

e. R Squared = .350 (Adjusted R Squared = .323)

## Lampiran 10 Data Perubahan Antara OHB Hari ke 5 dan OHB Hari ke 10

**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

**Descriptive Statistics**

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
D_(HSP3-HSP2)	Perlakuan	.02546	.294686	13
	Kontrol	.01931	.275069	13
	Total	.02238	.279304	26
D_(TNFa3-TNFa2)	Perlakuan	-.02469	.025359	13
	Kontrol	-.01954	.028351	13
	Total	-.02212	.026484	26
D_(SOD3-SOD2)	Perlakuan	-.16592	1.028469	13
	Kontrol	.00162	.625401	13
	Total	-.08215	.838307	26
D_(GULA3-GULA2)	Perlakuan	9.0769	30.05678	13
	Kontrol	-21.6923	67.70326	13
	Total	-6.3077	53.66546	26

**Box's Test of Equality of Covariance Matrices**

Box's M	21.499
F	1.757
df1	10
df2	2753.785
Sig.	.063

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests<sup>a</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>b</sup>
Intercept	Pillai's Trace	.440	4.118 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.013	.440	16.474	.842
	Wilks' Lambda	.560	4.118 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.013	.440	16.474	.842
	Hotelling's Trace	.784	4.118 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.013	.440	16.474	.842
	Roy's Largest Root	.784	4.118 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.013	.440	16.474	.842
KEL	Pillai's Trace	.132	.795 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.542	.132	3.180	.212
	Wilks' Lambda	.868	.795 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.542	.132	3.180	.212
	Hotelling's Trace	.151	.795 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.542	.132	3.180	.212
	Roy's Largest Root	.151	.795 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.542	.132	3.180	.212

- a. Computed using alpha = .05
- b. Exact statistic
- c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

	F	df1	df2	Sig.
D_(HSP3-HSP2)	.410	1	24	.528
D_(TNFa3-TNFa2)	1.250	1	24	.275
D_(SOD3-SOD2)	2.690	1	24	.114
D_(GULA3-GULA2)	5.086	1	24	.034

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

- a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>a</sup>
Corrected Model	D_(HSP3-HSP2)	.000 <sup>b</sup>	1	.000	.003	.957	.000	.003	.050
	D_(TNFa3-TNFa2)	.000 <sup>b</sup>	1	.000	.239	.630	.010	.239	.076
	D_(SOD3-SOD2)	.182 <sup>c</sup>	1	.182	.252	.620	.010	.252	.077
	D_(GULA3-GULA2)	6153.846 <sup>d</sup>	1	6153.846	2.243	.147	.085	2.243	.301
Intercept	D_(HSP3-HSP2)	.013	1	.013	.160	.692	.007	.160	.067
	D_(TNFa3-TNFa2)	.013	1	.013	17.578	.000	.423	17.578	.980
	D_(SOD3-SOD2)	.175	1	.175	.242	.627	.010	.242	.076
	D_(GULA3-GULA2)	1034.462	1	1034.462	.377	.545	.015	.377	.091
KEL	D_(HSP3-HSP2)	.000	1	.000	.003	.957	.000	.003	.050
	D_(TNFa3-TNFa2)	.000	1	.000	.239	.630	.010	.239	.076
	D_(SOD3-SOD2)	.182	1	.182	.252	.620	.010	.252	.077
	D_(GULA3-GULA2)	6153.846	1	6153.846	2.243	.147	.085	2.243	.301
Error	D_(HSP3-HSP2)	1.950	24	.081					
	D_(TNFa3-TNFa2)	.017	24	.001					
	D_(SOD3-SOD2)	17.386	24	.724					
	D_(GULA3-GULA2)	65845.692	24	2743.571					
Total	D_(HSP3-HSP2)	1.953	25						
	D_(TNFa3-TNFa2)	.030	25						
	D_(SOD3-SOD2)	17.744	25						
	D_(GULA3-GULA2)	73034.000	25						
Corrected Total	D_(HSP3-HSP2)	1.950	25						
	D_(TNFa3-TNFa2)	.018	25						
	D_(SOD3-SOD2)	17.569	25						
	D_(GULA3-GULA2)	71999.538	25						

- a. Computed using alpha = .05
- b. R Squared = .000 (Adjusted R Squared = -.042)
- c. R Squared = .010 (Adjusted R Squared = -.031)
- d. R Squared = .085 (Adjusted R Squared = .047)

## Lampiran 11 Data Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 10

**General Linear Model****Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
KEL	1	Perlakuan	13
	2	Kontrol	13

**Descriptive Statistics**

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
D_(HSP3-HSP1)	Perlakuan	.03823	.284681	13
	Kontrol	-.02585	.354910	13
	Total	.00619	.316907	26
D_(TNFa3-TNFa1)	Perlakuan	-.02092	.041185	13
	Kontrol	-.03208	.043963	13
	Total	-.02650	.042122	26
D_(SOD3-SOD1)	Perlakuan	1.05608	.545548	13
	Kontrol	1.31169	.634648	13
	Total	1.18388	.594290	26
D_(GULA3-GULA1)	Perlakuan	-64.5385	60.88187	13
	Kontrol	-24.9231	79.86286	13
	Total	-44.7308	72.44781	26

**Box's Test of Equality of Covariance Matrices<sup>a</sup>**

Box's M	6.873
F	.562
df1	10
df2	2753.785
Sig.	.846

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Test<sup>c</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>a</sup>
Intercept	Pillai's Trace	.882	39.275 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.000	.882	157.101	1.000
	Wilks' Lambda	.118	39.275 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.882	157.101	1.000
	Hotelling's Trace	7.481	39.275 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.882	157.101	1.000
	Roy's Largest Root	7.481	39.275 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.000	.882	157.101	1.000
KEL	Pillai's Trace	.127	.762 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.561	.127	3.050	.204
	Wilks' Lambda	.873	.762 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.561	.127	3.050	.204
	Hotelling's Trace	.145	.762 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.561	.127	3.050	.204
	Roy's Largest Root	.145	.762 <sup>b</sup>	4.000	21.000	.561	.127	3.050	.204

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

	F	df1	df2	Sig.
D_(HSP3-HSP1)	.557	1	24	.463
D_(TNFa3-TNFa1)	.025	1	24	.876
D_(SOD3-SOD1)	.155	1	24	.697
D_(GULA3-GULA1)	.158	1	24	.694

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power <sup>a</sup>
Corrected Model	D_(HSP3-HSP1)	.027 <sup>a</sup>	1	.027	.258	.616	.011	.258	.078
	D_(TNFa3-TNFa1)	.001 <sup>c</sup>	1	.001	.446	.511	.018	.446	.098
	D_(SOD3-SOD1)	.425 <sup>d</sup>	1	.425	1.213	.282	.048	1.213	.185
	D_(GULA3-GULA1)	10200.962 <sup>e</sup>	1	10200.962	2.023	.168	.078	2.023	.277
Intercept	D_(HSP3-HSP1)	.001	1	.001	.010	.923	.000	.010	.051
	D_(TNFa3-TNFa1)	.018	1	.018	10.063	.004	.295	10.063	.861
	D_(SOD3-SOD1)	36.441	1	36.441	104.068	.000	.813	104.068	1.000
	D_(GULA3-GULA1)	52021.885	1	52021.885	10.317	.004	.301	10.317	.869
KEL	D_(HSP3-HSP1)	.027	1	.027	.258	.616	.011	.258	.078
	D_(TNFa3-TNFa1)	.001	1	.001	.446	.511	.018	.446	.098
	D_(SOD3-SOD1)	.425	1	.425	1.213	.282	.048	1.213	.185
	D_(GULA3-GULA1)	10200.962	1	10200.962	2.023	.168	.078	2.023	.277
Error	D_(HSP3-HSP1)	2.484	24	.104					
	D_(TNFa3-TNFa1)	.044	24	.002					
	D_(SOD3-SOD1)	8.405	24	.350					
	D_(GULA3-GULA1)	121016.154	24	5042.340					
Total	D_(HSP3-HSP1)	2.512	26						
	D_(TNFa3-TNFa1)	.063	26						
	D_(SOD3-SOD1)	45.271	26						
	D_(GULA3-GULA1)	183239.000	26						
Corrected Total	D_(HSP3-HSP1)	2.511	25						
	D_(TNFa3-TNFa1)	.044	25						
	D_(SOD3-SOD1)	8.830	25						
	D_(GULA3-GULA1)	131217.115	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .011 (Adjusted R Squared = -.031)

c. R Squared = .018 (Adjusted R Squared = -.023)

d. R Squared = .048 (Adjusted R Squared = .008)

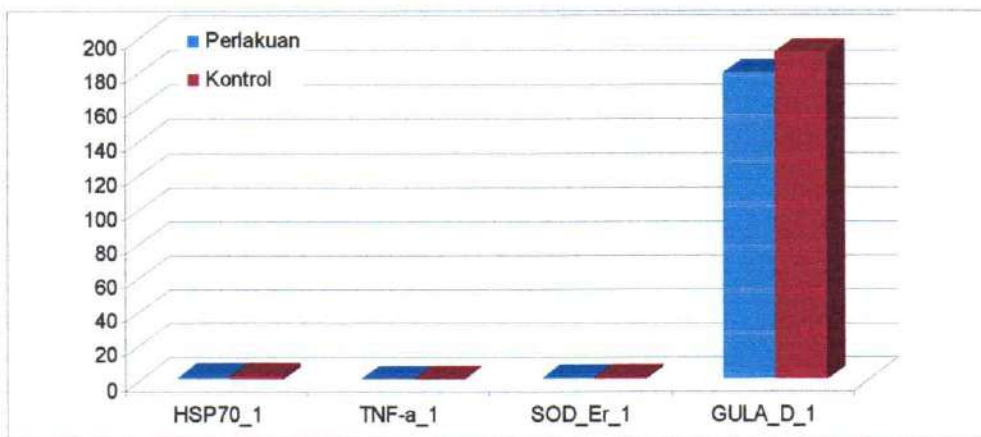
e. R Squared = .078 (Adjusted R Squared = .039)



Lampiran 12 Diagram Batang Pra OHB

PRA				
Descriptive Statistics				
	KEL	Mean	Std. Deviation	N
Hsp 70_1	Perlakuan	1.67	0.31	13
	Kontrol	1.9	0.55	13
	Total	1.78	0.46	26
TNF-a_1	Perlakuan	0.43	0.04	13
	Kontrol	0.46	0.07	13
	Total	0.44	0.06	26
SOD_Er_1	Perlakuan	1.06	0.15	13
	Kontrol	1.24	0.49	13
	Total	1.15	0.37	26
GULA_D_1	Perlakuan	179.85	72.43	13
	Kontrol	192.15	84.59	13
	Total	186	77.41	26

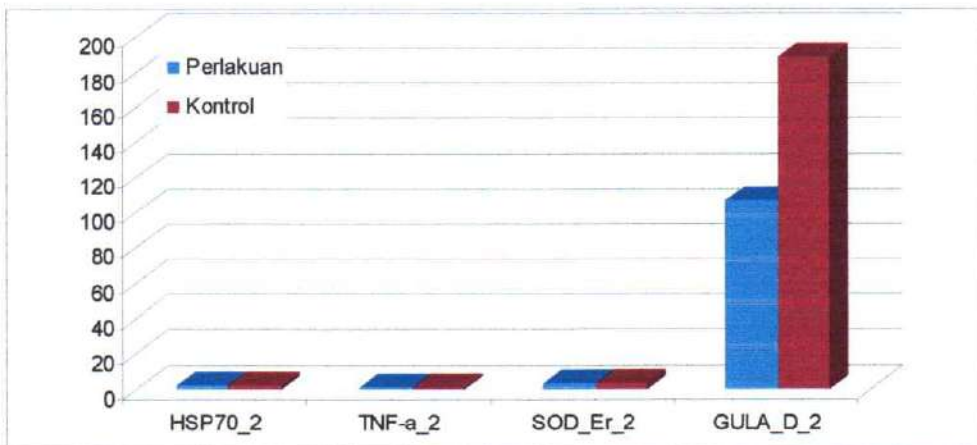
	Hsp 70_1	TNF-a_1	SOD_Er_1	GULA_D_1
Perlakuan	1.67	0.43	1.06	179.85
Kontrol	1.9	0.46	1.24	192.15



Lampiran 13 Diagram Batang OHB Hari ke 5

Descriptive Statistics				
	KEL	Mean	Std. Deviation	N
Hsp 70_2	Perlakuan	1.68	0.36	13
	Kontrol	1.86	0.6	13
	Total	1.77	0.49	26
TNF-a_2	Perlakuan	0.43	0.04	13
	Kontrol	0.45	0.06	13
	Total	0.44	0.05	26
SOD_Er_2	Perlakuan	2.28	0.61	13
	Kontrol	2.55	0.44	13
	Total	2.42	0.54	26
GULA_D_2	Perlakuan	106.23	27.84	13
	Kontrol	188.92	80.02	13
	Total	147.58	72.28	26

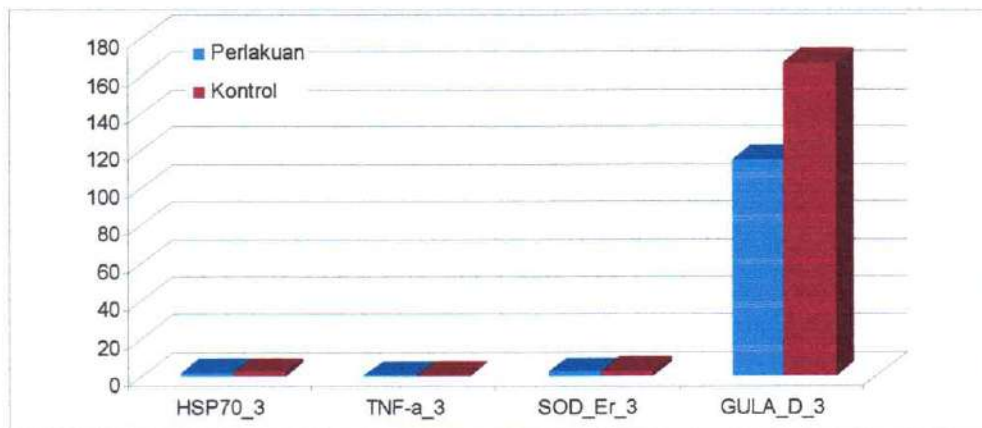
	Hsp 70_2	TNF-a_2	SOD_Er_2	GULA_D_2
Perlakuan	1.68	0.43	2.28	106.23
Kontrol	1.86	0.45	2.55	188.92



## Lampiran 14 Diagram Batang OHB Hari ke 10

Descriptive Statistics	KEL	Mean	Std. Deviation	N
HSP70_3	Perlakuan	1.71	0.27	13
	Kontrol	1.87	0.59	13
	Total	1.79	0.46	26
TNF-a_3	Perlakuan	0.41	0.04	13
	Kontrol	0.43	0.05	13
	Total	0.42	0.04	26
SOD_Er_3	Perlakuan	2.11	0.56	13
	Kontrol	2.55	0.33	13
	Total	2.33	0.5	26
GULA_D_3	Perlakuan	115.31	44.81	13
	Kontrol	167.23	41.39	13
	Total	141.27	49.87	26

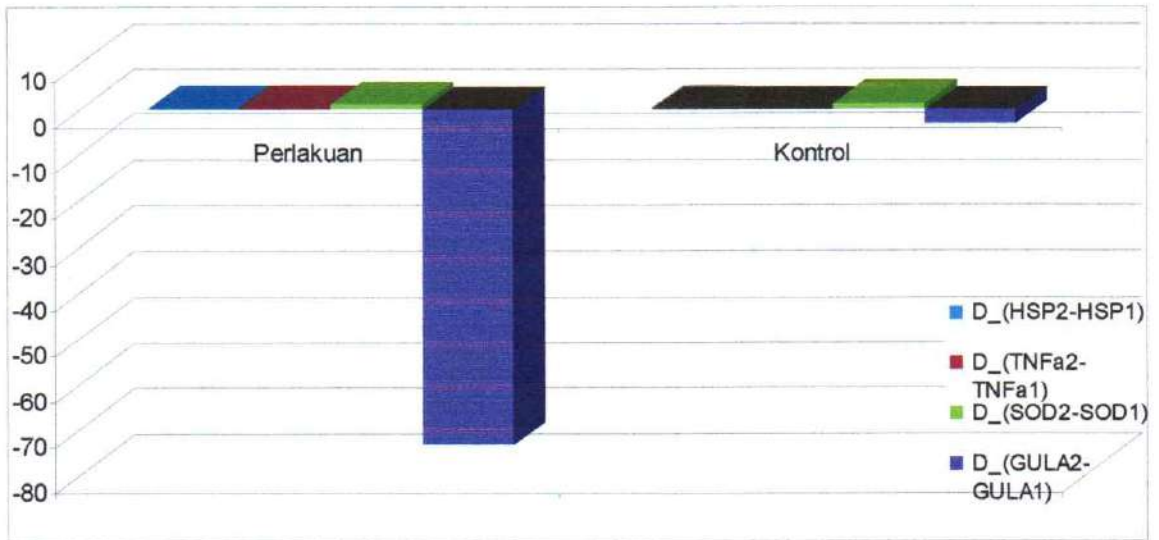
	Hsp 70_3	TNF-a_3	SOD_Er_3	GULA_D_3
Perlakuan	1.71	0.41	2.11	115.31
Kontrol	1.87	0.43	2.55	167.23



## Lampiran 15 Data Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 5

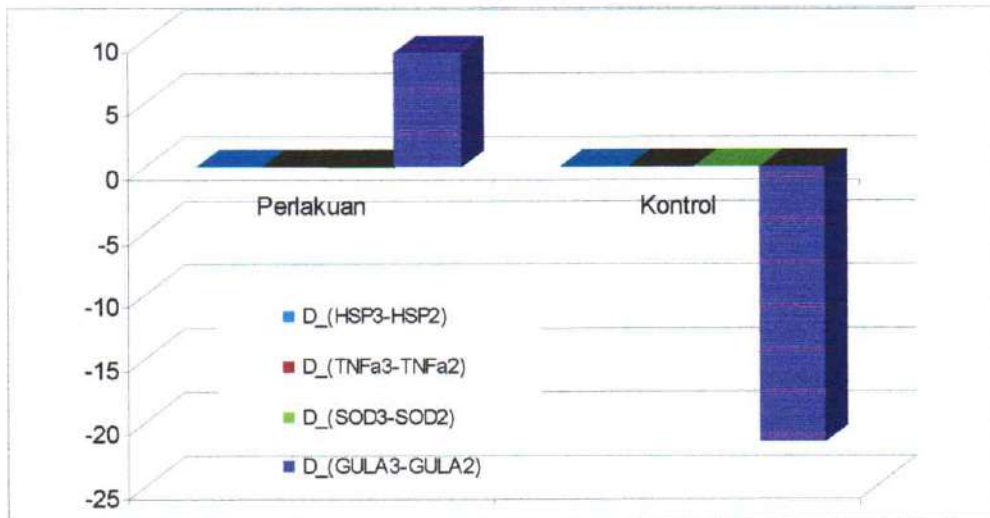
Group Statistics					
KEL		Mean	Std. Deviation	Valid N (listwise)	
		Unweighted	Weighted	Unweighted	Weighted
Perlakuan	D_(HSP2-HSP1)	0.01	0.28	13	13
	D_(TNFa2-TNFa1)	0	0.04	13	13
	D_(SOD2-SOD1)	1.22	0.66	13	13
	D_(GULA2-GULA1)	-73.62	57.63	13	13
Kontrol	D_(HSP2-HSP1)	-0.05	0.2	13	13
	D_(TNFa2-TNFa1)	-0.01	0.05	13	13
	D_(SOD2-SOD1)	1.31	0.67	13	13
	D_(GULA2-GULA1)	-3.23	40.72	13	13
Total	D_(HSP2-HSP1)	-0.02	0.24	26	26
	D_(TNFa2-TNFa1)	0	0.05	26	26
	D_(SOD2-SOD1)	1.27	0.65	26	26
	D_(GULA2-GULA1)	-38.42	60.65	26	26

	Perlakuan	Kontrol
D_(HSP2-HSP1)	0.01	-0.05
D_(TNFa2-TNFa1)	0	-0.01
D_(SOD2-SOD1)	1.22	1.31
D_(GULA2-GULA1)	-73.62	-3.23



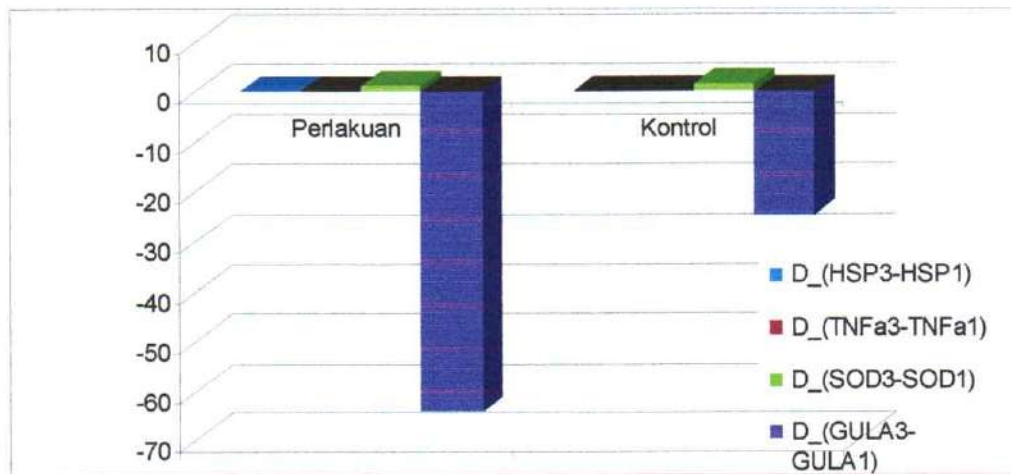
## Lampiran 16 Diagram Batang Perubahan Antara OHB Hari ke 5 dan 10

	D_(HSP3-HSP2)	D_(TNFa3-TNfa2)	D_(SOD3-SOD2)	D_(GULA3-GULA2)
Perlakuan	0.025461538	-0.024692308	-0.165923077	9.076923077
Kontrol	0.019307692	-0.019538462	0.001615385	-21.69230769



## Lampiran 17 Diagram Batang Perubahan Antara Pra OHB dan OHB Hari ke 10

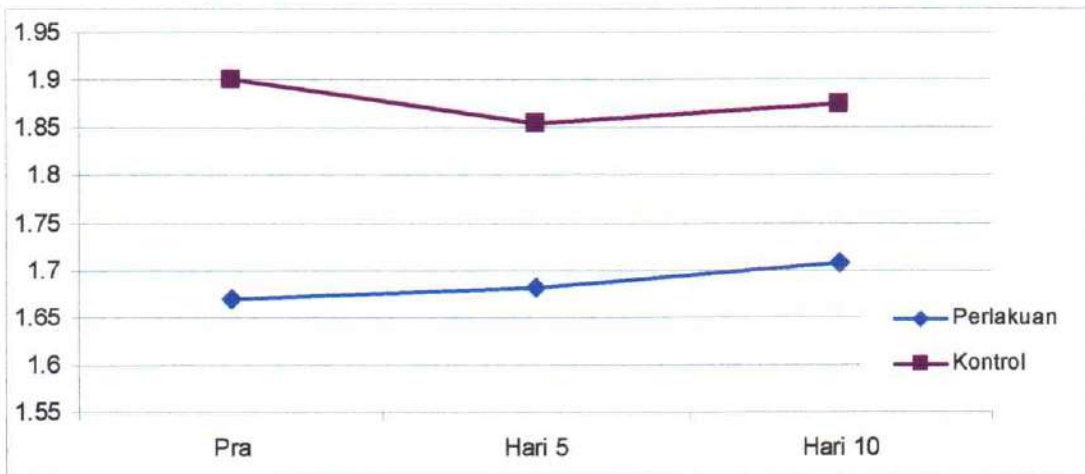
	D_(HSP3-HSP1)	D_(TNFa3-TNFa1)	D_(SOD3-SOD1)	D_(GULA3-GULA1)
Perlakuan	0.038230769	-0.020923077	1.056076923	-64.53846154
Kontrol	-0.025846154	-0.032076923	1.311692308	-24.92307692



Lampiran 18 Grafik Perubahan Variabel Tergantung Selama OHB

	Hsp 70_1	TNF-a_1	SOD_Er_1	GULA_D_1
Perlakuan	1.67	0.43	1.06	179.85
Kontrol	1.9	0.46	1.24	192.15
Perlakuan	1.68	0.43	2.28	106.23
Kontrol	1.86	0.45	2.55	188.92
Perlakuan	1.71	0.41	2.11	115.31
Kontrol	1.87	0.43	2.55	167.23

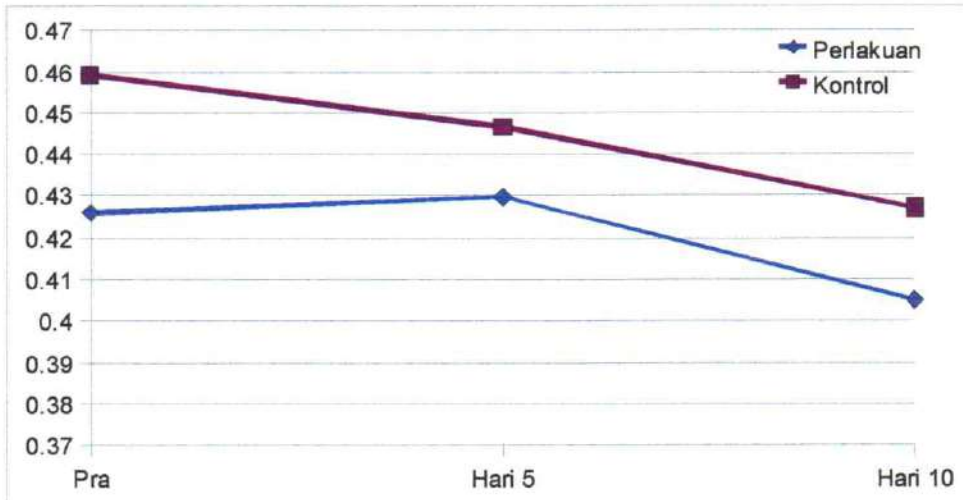
Hsp		Pra	Hari 5	Hari 10
	Perlakuan	1.67	1.68	1.71
	Kontrol	1.9	1.86	1.87





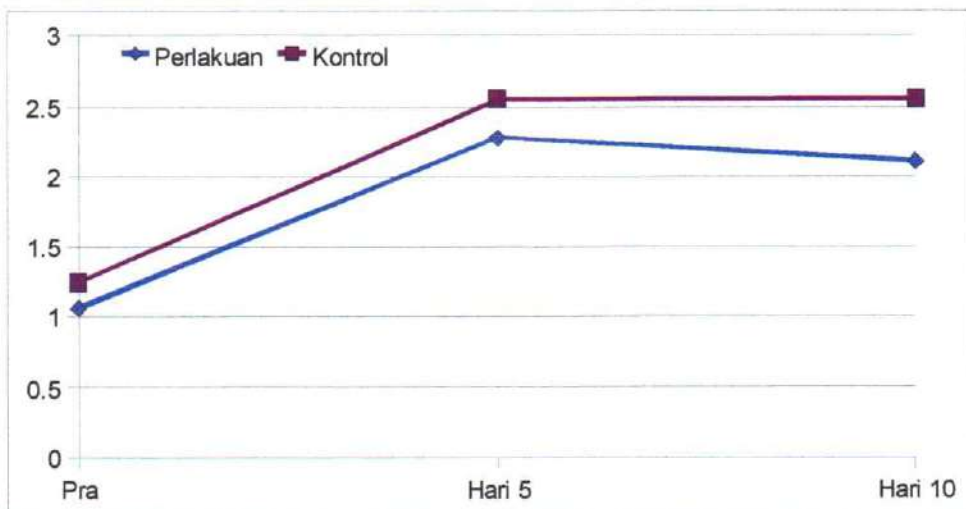
TNFa

	Pra	Hari 5	Hari 10
Perlakuan	0.43	0.43	0.41
Kontrol	0.46	0.45	0.43



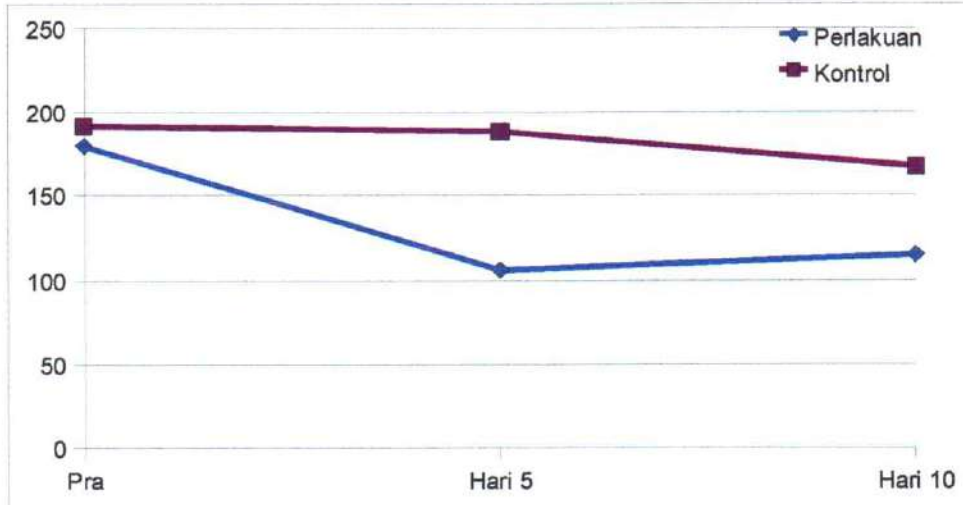
SOD

	Pra	Hari 5	Hari 10
Perlakuan	1.06	2.28	2.11
Kontrol	1.24	2.55	2.55



GULA

	Pra	Hari 5	Hari 10
Perlakuan	179.85	106.23	115.31
Kontrol	192.15	188.92	167.23



## Lampiran 19 Pola Diskriminan Variabel Tergantung Antara Pra OHB dan OHB

Hari ke 5

	Hsp70_1	TNF-a_1	SOD_Er_1	GULA_D_1
Perlakuan	1.67	0.43	1.06	179.85
Kontrol	1.9	0.46	1.24	192.15
Perlakuan	1.68	0.43	2.28	106.23
Kontrol	1.86	0.45	2.55	188.92
Perlakuan	1.71	0.41	2.11	115.31
Kontrol	1.87	0.43	2.55	167.23

Descriptive Statistics				
	KEL	Mean	Std. Deviation	N
P_Hsp	Perlakuan	-0.01	0.24	13
	Kontrol	0.19	0.85	13
	Total	0.09	0.62	26
P_TNFa	Perlakuan	0.03	0.31	13
	Kontrol	-0.24	1.05	13
	Total	-0.1	0.77	26
P_SOD	Perlakuan	3.27	1.77	13
	Kontrol	4.87	2.48	13
	Total	4.07	2.27	26
P_GULA_D	Perlakuan	1.77	1.38	13
	Kontrol	-0.03	0.37	13
	Total	0.87	1.35	26

	P_Hsp	P_TNFa	P_SOD	P_GULA_D
Perlakuan	-0.01	0.03	3.27	1.77
Kontrol	0.19	-0.24	4.87	-0.03

**Box's Test of Equality of Covariance Matrices<sup>a</sup>**

Box's M	52.634
F	4.301
df1	10
df2	2753.785
Sig.	.000

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

**Multivariate Test<sup>b</sup>**

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
Intercept	Pillai's Trace	.836	26.802 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.000	.836
	Wilks' Lambda	.164	26.802 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.000	.836
	Hotelling's Trace	5.105	26.802 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.000	.836
	Roy's Largest Root	5.105	26.802 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.000	.836
KEL	Pillai's Trace	.561	6.717 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.001	.561
	Wilks' Lambda	.439	6.717 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.001	.561
	Hotelling's Trace	1.279	6.717 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.001	.561
	Roy's Largest Root	1.279	6.717 <sup>a</sup>	4.000	21.000	.001	.561

a. Exact statistic

b. Design: Intercept+KEL

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>b</sup>**

	F	df1	df2	Sig.
P_HSP	10.006	1	24	.004
P_TNFa	4.595	1	24	.042
P_SOD	1.196	1	24	.285
P_GULA_D	13.517	1	24	.001

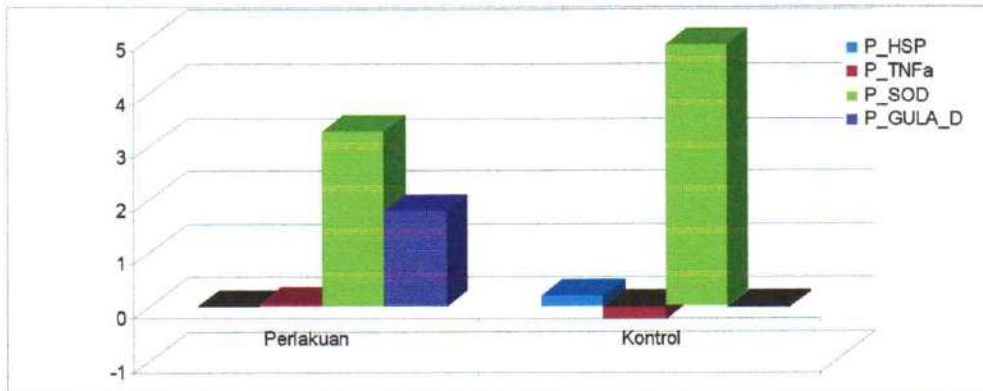
Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KEL

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	P_HSP	.260 <sup>a</sup>	1	.260	.664	.423	.027
	P_TNFa	.488 <sup>b</sup>	1	.488	.818	.375	.033
	P_SOD	16.606 <sup>c</sup>	1	16.606	3.565	.071	.129
	P_GULA_D	20.963 <sup>d</sup>	1	20.963	20.477	.000	.460
Intercept	P_HSP	.206	1	.206	.526	.475	.021
	P_TNFa	.284	1	.284	.475	.497	.019
	P_SOD	431.045	1	431.045	92.530	.000	.794
	P_GULA_D	19.627	1	19.627	19.173	.000	.444
KEL	P_HSP	.260	1	.260	.664	.423	.027
	P_TNFa	.488	1	.488	.818	.375	.033
	P_SOD	16.606	1	16.606	3.565	.071	.129
	P_GULA_D	20.963	1	20.963	20.477	.000	.460
Error	P_HSP	9.382	24	.391			
	P_TNFa	14.329	24	.597			
	P_SOD	111.803	24	4.658			
	P_GULA_D	24.589	24	1.024			
Total	P_HSP	9.847	26				
	P_TNFa	15.101	26				
	P_SOD	559.454	26				
	P_GULA_D	65.159	26				
Corrected Total	P_HSP	9.641	25				
	P_TNFa	14.817	25				
	P_SOD	128.408	25				
	P_GULA_D	45.532	25				

- a. R Squared = .027 (Adjusted R Squared = -.014)
- b. R Squared = .033 (Adjusted R Squared = -.007)
- c. R Squared = .129 (Adjusted R Squared = .093)
- d. R Squared = .460 (Adjusted R Squared = .436)



Lampiran 20 Daftar nama orang coba dan variabel kelompok perlakuan kontrol

Data variabel moderator kelompok OHB

No.	Nama	Umur	Berat Badan (kg)	Tinggi Badan (cm)	BMI	GD Pra OHB	HbA1c Pra OHB
1	2	3	6	7	9	11	14
1	HJ	59	62	163	23,3	250	7,5 %
2	MS	46	58	165	21,3	278	7,1 %
3	Sr	63	60	165	22,0	288	7,5 %
4	Wh	60	65	163	24,5	226	5,2 %
5	Sw	59	64	157	25,6	266	6,3 %
6	A K	65	88	173	29,4	238	7,7 %
7	Bd	64	60	175	19,6	260	6,2 %
8	Mt	61	53	159	21,0	222	5,9 %
9	Tr	64	62	159	24,5	296	5,6 %
10	Sm	62	63	161	24,3	217	6,4 %
11	AH	48	70	160	27,3	319	8,9 %
12	Sk	61	60	160	23,0	278	7,5 %
13	Sh	49	64	160	25,0	200	6,4 %

Data variabel moderator kelompok kontrol

No.	Nama	Umur	Berat Badan (kg)	Tinggi Badan (cm)	BMI	GD Pra OHB	HbA1c Pra OHB
1	2	3	6	7	9	11	14
1	Sw	57	56	156	23,0	246	7,4 %
2	Pn	58	67	166	24,3	205	6,6 %
3	Pr	52	81	172	27,3	293	8,1 %
4	Sd	55	60	167	21,5	264	6,9 %
5	Kn	57	75	173	25,1	387	9,5 %
6	Sg	61	66	164	24,5	280	6,6 %
7	EK	61	69	159	27,3	232	5,5 %
8	Sp	64	69	170	23,9	276	6,8 %
9	SA	65	63	163	23,7	283	6,8 %
10	SS	46	70	167	25,1	288	7,0 %
11	DJ	46	68	170	23,5	247	6,9 %
12	EY	43	68	165	25,0	237	6,7 %
3	MM	64	57	161	22,0	360	7,1 %

## Data variabel Hsp 70 limfosit kelompok OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	HJ	1,993	2,222	1,825
2	MS	1,877	1,759	1,834
3	Sr	1,452	1,338	1,686
4	Wh	1,390	1,628	1,451
5	Sw	2,008	1,771	1,875
6	AK	1,622	1,573	1,964
7	Bd	2,137	2,483	2,138
8	Mt	1,499	1,389	1,844
9	Tr	1,099	1,729	1,507
10	Sm	1,995	1,838	1,734
11	AH	1,521	1,283	1,648
12	Sk	1,448	1,577	1,635
13	Sh	1,655	1,272	1,052

## Data variabel Hsp 70 limfosit kelompok kontrol

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	Sw	1,429	1,375	1,144
2	Pn	2,161	2,001	1,874
3	Pr	2,179	2,328	2,426
4	Sd	2,222	2,335	2,349
5	Kn	1,508	1,791	1,887
6	Sg	1,307	1,557	2,082
7	EK	3,286	3,286	3,286
8	Sp	1,637	1,587	1,341
9	SA	1,483	1,071	1,558
10	SS	1,630	1,364	1,441
11	DJ	1,809	1,628	1,305
12	EY	2,492	2,420	2,102
13	MM	1,561	1,374	1,573

Data variabel TNF- $\alpha$  serum kelompok OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	HJ	0,470	0,475	0,467
2	MS	0,419	0,439	0,378
3	Sr	0,442	0,462	0,433
4	Wh	0,372	0,376	0,393
5	Sw	0,483	0,504	0,484
6	AK	0,414	0,443	0,441
7	Bd	0,514	0,402	0,392
8	Mt	0,372	0,368	0,344
9	Tr	0,388	0,415	0,382
10	Sm	0,397	0,414	0,401
11	AH	0,405	0,424	0,403
12	Sk	0,464	0,468	0,386
13	Sh	0,397	0,396	0,361

Data variabel TNF- $\alpha$  serum kelompok kontrol

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	Sw	0,510	0,497	0,476
2	Pn	0,495	0,519	0,484
3	Pr	0,551	0,392	0,402
4	Sd	0,375	0,413	0,355
5	Kn	0,420	0,483	0,421
6	Sg	0,444	0,412	0,431
7	EK	0,526	0,542	0,493
8	Sp	0,583	0,518	0,482
9	SA	0,360	0,344	0,353
10	SS	0,412	0,411	0,401
11	DJ	0,426	0,412	0,425
12	EY	0,446	0,439	0,440
13	MM	0,421	0,424	0,389



## Data variabel SOD eritrosit kelompok OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	HJ	1,118	2,737	2,451
2	MS	0,892	2,737	1,500
3	Sr	0,906	2,436	2,142
4	Wh	1,301	2,799	1,623
5	Sw	0,954	2,737	2,422
6	AK	1,177	2,422	2,872
7	Bd	0,946	1,514	2,613
8	Mt	1,141	2,069	1,583
9	Tr	0,924	2,395	2,260
10	Sm	1,321	1,242	2,767
11	AH	0,908	2,767	1,099
12	Sk	1,120	2,709	1,661
13	Sh	1,054	1,084	2,498

## Data variabel SOD eritrosit kelompok kontrol

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	Sw	1,073	1,872	2,737
2	Pn	0,877	2,799	2,709
3	Pr	1,354	2,799	1,917
4	Sd	1,137	2,834	2,181
5	Kn	1,007	2,799	2,799
6	Sg	1,222	2,834	2,142
7	EK	0,925	2,128	2,799
8	Sp	1,432	2,834	2,767
9	SA	1,756	2,767	2,150
10	SS	0,744	2,799	2,767
11	DJ	1,246	1,485	2,635
12	EY	0,809	2,767	2,834
13	MM	2,570	2,466	2,767

## Data variabel gula darah kelompok OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	HJ	150	76	87
2	MS	278	160	139
3	Sr	188	120	188
4	Wh	126	95	95
5	Sw	166	93	90
6	AK	138	113	108
7	Bd	160	107	86
8	Mt	122	102	109
9	Tr	96	89	108
10	Sm	217	67	86
11	AH	319	159	229
12	Sk	278	111	87
13	Sh	100	89	87

## Data variabel gula darah kelompok OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	Sw	146	204	244
2	Pn	105	147	137
3	Pr	193	201	162
4	Sd	164	199	203
5	Kn	387	316	175
6	Sg	180	199	162
7	EK	132	161	118
8	Sp	176	143	143
9	SA	183	155	113
10	SS	188	156	210
11	DJ	147	95	159
12	EY	137	100	127
13	MM	360	380	221

## Lampiran 21 Dokumentasi selama penelitian



Work shop dalam rangka pencarian sampel pada Perhimpunan Penderita DM RSAL



Pengambilan dan pemeriksaan sampel darah pada orang coba



Kelompok perlakuan saat menjalani terapi OHB di RUBT (multiplace chamber)



Kit HSP 70 dan TNF- $\alpha$  (asay design)



Water Bath Shaker Wina 605



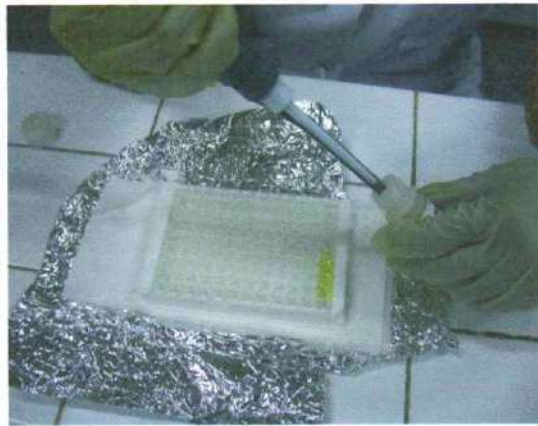
Micro pipet (Eppendorf)



Sampel



Proses Elisa Hsp 70



Proses Elisa TNF- $\alpha$



Timbangan Analitik



Vortek Mixer



Micro centrifuge



Oven Binder



Spectrophotometer UV 160(Shimadzu)



Elisa Reader