

**EFEK OKS!IGENASI HIPERBARIK TERHADAP
PENURUNAN RADIKAL BEBAS PADA PENDERITA DIABETES
MELLITUS TIPE 2**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**Oleh :
SUPRIJANTO
NIM. 090610098M**

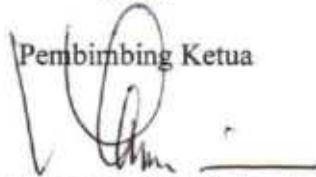
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL, 26 AGUSTUS 2008

Oleh

Pembimbing Ketua



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

Pembimbing



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

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D
NIP. 130541984

**EFEK OKSIGENASI HIPERBARIK TERHADAP
PENURUNAN RADIKAL BEBAS PADA PENDERITA DIABETES
MELLITUS TIPE 2**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :
SUPRIJANTO
NIM.090610098M

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

Telah diuji pada

Tanggal, 26 Agustus 2008

PANITIA PENGUJI TESIS

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

Anggota : 1. Prof. Dr. H.M.S Wiyadi, dr., Sp.THT.KL (K)

2. Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS

3. Dr. H.M. Guritno, dr., SMHS, DEA

4. Muh. Cholil Munif, dr., AIFM

UCAPAN TERIMAKASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Ucapan terimakasih tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS selaku pembimbing ketua atas segala kesabarannya memberikan dorongan, bimbingan dan saran-saran dalam mengerjakan penulisan tesis ini.

Terimakasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Laksamana Pertama TNI Dr. H.M. Guritno S, dr., SMHS, DEA, selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, saran, dan bimbingan dalam mengerjakan penulisan tesis ini.

Terimakasih yang sebesar-besarnya saya ucapkan kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Fasich, Drs., Apt, atas ijin yang diberikan untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Minat Studi Hiperbarik, Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister, Prof. Dr. Harjanto JM, dr., MS atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Minat Studi Hiperbarik, Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D dalam menyelesaikan pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Minat Studi Hiperbarik, Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Minat Studi Hiperbarik, Prof. Dr. Sunarko Setyawan, dr., MS yang telah memberi nasehat, dan bimbingan sejak awal pendidikan sampai penulisan tesis ini selesai.

Wakil Kepala Pusat Kesehatan/Mantan Kadiskesal Laksamana Pertama TNI Budhi Siswanto, drg., MM yang telah memberikan ijin untuk mengikuti pendidikan S2 Hiperbarik.

Kepala Rumah Sakit TNI AL Dr Ramelan Surabaya Laksamana Pertama TNI Winarno, dr., Sp. OG yang telah memberikan ijin serta bantuan pengujian laboratorium sampel penelitian.

Kepala Lakesla Drs. Med Rijadi, S., Phys Kolonel Laut (K) Hadi Soesilo, dr., Sp.M yang telah memberikan fasilitas RUBT untuk penelitian dan memberikan ijin untuk mengikuti pendidikan Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Minat Studi Hiperbarik, Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Muh. Cholil Munif, dr., AIFM selaku konsultan statistik atas bimbingannya dalam menganalisis data penulisan tesis ini.

Abdul Cholik, BSc, selaku konsultan statistik atas segala kesabarannya memberikan dorongan, bimbingan dan saran dalam menganalisis data penulisan tesis ini.

Semua rekan di Lakesla dan anggota Lakesla yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.

Tak lupa saya ucapkan terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada orang tua, ayah Pono (Almarhum) dan ibu Sulasih yang selalu memberikan doa serta memberikan dukungan motivasi sampai dengan penulisan tesis ini selesai.

Istri saya, Lulut Setyanengsih, S.Sos, anak saya Ardhya Rahma Prinanda dan Aditya Dhafa Priputra atas dukungan, pengertian dan doanya dalam menyelesaikan pendidikan ini.

Akhir kata, saran dan masukan untuk melengkapi tesis ini dengan harapan semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua.

Surabaya, 26 Agustus 2008

Penulis

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek oksigenasi hiperbarik terhadap penurunan radikal bebas pada penderita diabetes mellitus tipe 2. Rancangan penelitian yang digunakan ini adalah *Randomized Control Pre test Post test Design*. Penelitian ini dilaksanakan di Lembaga Kesehatan Kelautan (Lakesla), sedangkan pemeriksaan laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Obyek penelitian 9 orang penderita diabetes mellitus tipe 2, berusia 45 – 65 tahun, terdiri dari 2 (dua) kelompok yaitu : kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan mendapat paparan oksigenasi hiperbarik 2,4 ATA menghirup oksigen 100 % selama 3 x 30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa selama 10 kali berturut-turut selama 10 hari. Kelompok kontrol dengan kondisi normobarik normoksi. Pengambilan data dilakukan pada pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 dilakukan pemeriksaan radikal bebas (MDA), trigliserida, dan gula darah.

Pengukuran radikal bebas (MDA) diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri, trigliserida dengan metode GPO PAP dan gula darah dengan metode enzimatis kolorimetri. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji normalitas, homogenitas, uji beda dengan manova, dilanjutkan dengan analisis diskriminan untuk mendapatkan pola kontribusi variabel dominan.

Hasil analisis ke-3 kondisi perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5, OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10, dan pra OHB dengan OHB hari ke-10 yang dapat dilanjutkan untuk dianalisis dengan pola diskriminan adalah kondisi perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5.

Berdasarkan hasil analisis diskriminan didapatkan 2 variabel yang dapat membedakan yaitu perubahan variabel MDA dan gula darah dan didapat model regresi linier (Fisher linier) yaitu : pada kelompok perlakuan perubahan (delta) variabel MDA $-17,712$, gula darah $-0,029$. Sedangkan pada kelompok kontrol perubahan (delta) variabel MDA $-4,402$, gula darah $-0,001$.

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana $F_{hit} = 18,367$ dengan tingkat signifikan $P=0,00$ ($P<0,05$), artinya MDA dan gula darah antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 ada perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Setelah diberi perlakuan ternyata variabel MDA dan gula darah mempunyai kontribusi positif terhadap efek terapi OHB.

Berdasarkan dari hasil pembahasan dapat diambil suatu kesimpulan bahwa : efek terapi OHB hari ke-5 dengan dosis 2,4 ATA 100 % O_2 3 x 30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari paling efektif menurunkan MDA dan gula darah.

Kata kunci : Oksigenasi Hiperbarik, Radikal Bebas (MDA), Trigliserida, Gula Darah, Diabetes Mellitus Tipe 2

ABSTRACT

Hyperbaric oxygenation effect was investigated on free radicals decrease in patient diabetes mellitus type 2.

Method used Randomized Control Pre test Post test Design. Hyperbaric oxygenation has been held in Indonesia Navy Health Institute and laboratorium testing in laboratorium Biomedik Medicine Faculty in Brawijaya University Malang. Objects of the experimental were 9 patient diabetes mellitus type 2, 45 – 65 years old, which divided into two group, experimental and control group. The experimental group was exposed hyperbaric oxygenation at 2.4 ATA breathing 100 % O₂ for 3 x 30 minutes with 5 minutes interval breathing air to 10 days continued. For control group breathing air 1 at ATA. The blood serum taken before exposure, after 5 session, and after 10 session HBO exposure.

The measurement of MDA using spectrophotometry, triglyceric using GPO PAP, and blood glucose using enzymatic colorimetry. Data obtained were analyzed statistically using descriptive, normality, multivariate, as well as discriminant.

Analysis result three condition the changing (Δ) between pra HBO with HBO after 5 days, HBO after 5 days with HBO after 10 days, dan pra HBO with HBO after 10 days can for analysis with discriminant i.e : the changing condition (Δ) between pra HBO with HBO after 5 days.

Analysis result using Wilks Lambda method $F = 18.367$ with significant level $P=0.00$ ($P<0.05$) means MDA and blood glucose between pra HBO with HBO after 5 days significant different between before hyperbaric oxygenation with HBO exposure.

After treatment MDA and blood glucose had positif contributed up to hyperbaric oxygenation.

The result analysis, we conclude : effects of hyperbaric oxygenation 5 days at 2.4 ATA breathing 100 % O₂ for 3 x 30 minutes with 5 minutes interval breathing air to 10 days continued rather than effective decrease MDA and blood glucose.

Key words : Hyperbaric Oxygen, Free Radical (MDA), Triglycerida, Blood Glucose, Diabetes Mellitus Type 2



DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Persyaratan	iii
Lembar Pengesahan	iv
Panitia Penguji Tesis.....	v
Ucapan Terimakasih	vi
Ringkasan.....	ix
Abstract.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Oksigenasi Hiperbarik	6
2.2 Aspek Fisika Hiperbarik	6

2.3	Efek Fisiologi Hiperbarik	7
2.3.1	Fase Respirasi	7
2.3.2	Fase Transportasi dan Utilisasi	8
2.4	Pengaruh Oksigen Hiperbarik.....	10
2.4.1	Pengaruh Terhadap Kelarutan Oksigen Dalam Darah.....	10
2.4.2	Pengaruh Biokimiawi	10
2.5	Diabetes Mellitus Tipe 2.....	10
2.5.1	Klasifikasi Diabetes Mellitus.....	11
2.5.2	Pengertian Resistensi Insulin.....	12
2.5.3	TNF- α	14
2.5.4	TNF- α di jaringan adiposa.....	15
2.5.5	Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2.....	16
2.5.6	Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus Tipe 2	17
2.5.7	Sekresi Insulin Oleh Sel Beta Pankreas.....	18
2.5.8	Glukosa Darah	19
2.6	Mitokondria	19
2.6.1	Sintesa ATP Oleh Mitokondria	19
2.6.2	Penggunaan Oksigen Pada Fosforilasi Oksidasi.....	20
2.6.3	Kegagalan Sintesa ATP Oleh Mitokondria	20
2.6.4	SOR Sebagai Produk Samping Aktivitas Mitokondria.....	21
2.7	Oksidan dan Radikal Bebas	23
2.7.1	<i>Reactive Oxygen Species (ROS)</i>	25
2.7.2	Sifat Radikal Bebas.....	28
2.8	Antioksidan.....	29
2.9	<i>Heat Shock Protein (Hsp)</i>	31

2.9.1	Penggolongan Hsp.....	31
2.9.2	Peranan Hsp dalam Sintesis Protein.....	34
2.10	Metabolisme Trigliserida.....	35
2.11	<i>Malondialdehyde (MDA)</i>	37
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	39
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	39
3.2	Hipotesis Penelitian	42
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	43
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	32
4.1.1	Jenis Penelitian	43
4.1.2	Rancangan Penelitian.....	43
4.2	Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel.....	44
4.2.1	Populasi.....	44
4.2.2	Sampel	44
4.2.3	Besar Sampel	45
4.2.4	Teknik Pengambilan Sampel.....	46
4.3	Variabel Penelitian.....	49
4.3.1	Klasifikasi Variabel	49
4.3.2	Definisi Operasional Variabel	49
4.4	Bahan dan Instrumen Penelitian.....	50
4.4.1	Bahan Penelitian	50
4.4.2	Instrumen Penelitian	50
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian	51
4.5.1	Lokasi Penelitian.....	51
4.5.2	Waktu Penelitian.....	52

4.5.3	Prosedur Pengambilan Data.....	52
4.6	Cara Pengolahan dan Analisa Data.....	55
BAB 5.	HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN.....	56
5.1	Data Variabel Moderator.....	56
5.2	Kondisi pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari-10 variabel MDA, trigliserida dan gula darah.....	57
5.2.1	Kondisi pra OHB variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	57
5.2.2	Kondisi OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	58
5.2.3	Kondisi OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah....	58
5.3	Perubahan (delta) variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	59
5.3.1	Perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	59
5.3.2	Perubahan antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	60
5.3.3	Perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	61
5.4	Analisis diskriminan variabel MDA, dan gula darah.....	64
BAB 6.	PEMBAHASAN.....	66
BAB 7.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	72
7.1	Kesimpulan.....	72
7.2	Saran.....	72
	DAFTAR PUSTAKA.....	73
	LAMPIRAN.....	77

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Klasifikasi genetik DM tipe 2 (NIDDM).....	11
Tabel 2.2 : Penggolongan dan fungsi utama hsp	32
Tabel 5.1 : Data homogenitas variabel moderator.....	56
Tabel 5.2 : Hasil uji anova variabel moderator.....	56
Tabel 5.3 : Rerata data pra OHB (awal) variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	57
Tabel 5.4 : Rerata data OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	58
Tabel 5.5 : Rerata data OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	59
Tabel 5.6 : Rerata data perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah	60
Tabel 5.7 : Rerata data perubahan antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah	61
Tabel 5.8 : Rerata data perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah	62
Tabel 5.9 : Tabel Fisher linier diskriminan.....	64
Tabel 5.10: Pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, dan gula darah.....	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Glut 4 pada metabolisme di jaringan otot dan sel adipose	13
Gambar 2.2 : Komplikasi diabetes mellitus akibat hiperglikemi.....	17
Gambar 3.1 : Bagan kerangka konseptual	42
Gambar 4.1 : Bagan teknik pengambilan sampel	48
Gambar 5.1 : Diagram batang kondisi pra OHB variabel MDA, trigliserida dan gula darah.....	57
Gambar 5.2 : Diagram batang kondisi OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	58
Gambar 5.3 : Diagram batang kondisi OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	59
Gambar 5.4 : Diagram batang perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	60
Gambar 5.5 : Diagram batang perubahan (delta) antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	61
Gambar 5.6 : Diagram batang perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	62
Gambar 5.7 : Kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA.....	63
Gambar 5.8 : Kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel trigliserida.....	63
Gambar 5.9 : Kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel gula darah	64
Gambar 5.10 : Diagram batang pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA dan gula darah	65
Gambar 5.11 : Diagram alur penurunan variabel MDA dan gula darah terhadap efek OHB	68

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Ethical Clearance	77
Lampiran 2 : Formulir Persetujuan.....	78
Lampiran 3 : Data variabel moderator kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.....	79
Lampiran 4 : Data variabel tergantung MDA plasma kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.....	80
Lampiran 5 : Data variabel tergantung trigliserida kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.....	81
Lampiran 6 : Data variabel tergantung gula darah kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.....	82
Lampiran 7 : Analisis data variabel moderator kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.....	83
Lampiran 8 : Analisis data pra OHB variabel MDA, trigliserida, dan gula darah ...	85
Lampiran 9 : Analisis data OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	88
Lampiran 10: Analisis data OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	91
Lampiran 11: Analisis data perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah	94
Lampiran 12: Analisis data perubahan (delta) antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	97
Lampiran 13: Analisis data perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah	100
Lampiran 14: Analisis diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA dan gula darah.....	103
Lampiran 15: Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	111
Lampiran 16: Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA	112

Lampiran 17: Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel trigliserida	113
Lampiran 18: Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel gula darah	114
Lampiran 19: Diagram batang pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah	115
Lampiran 20: Diagram batang kondisi pra OHB variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	116
Lampiran 21: Diagram batang kondisi OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	117
Lampiran 22: Diagram batang kondisi OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	118
Lampiran 23: Diagram batang perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.....	119
Lampiran 24: Diagram batang pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA dan gula darah	120
Lampiran 25: Pasien perlakuan waktu mendapat terapi oksigen hiperbarik dan Pengambilan sampel darah pada pasien perlakuan.....	121
Lampiran 26: Alat untuk mengukur kadar gula darah dan trigliserida.....	122
Lampiran 27: Alat untuk mengukur kadar MDA (<i>Malondialdehyde</i>)	123

DAFTAR SINGKATAN

ACC	: <i>Acetyl CoA Carboxylase</i>
ACS	: <i>Acetyl CoA Synthetase</i>
ATA	: <i>Atmosphere Absolut</i>
ADP	: <i>Adenosine Diphosphat</i>
ATP	: <i>Adenosin Triphosphat</i>
BB	: Berat Badan
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
CNTF	: <i>Ciliary Neurotrophic Factor</i>
CO ₂	: Carbondioksida
CPT-I	: <i>Carnitine Palmitol Transferase</i>
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: <i>Deoxyribonucleid Acid</i>
E. Coli	: <i>Eschericia Coli</i>
EKG	: Elektrokardiogram
ERK	: <i>Extraceluller Signal Related Kinase</i>
FADH	: <i>Flavinamide Dinucleotide Dehidrogenase</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
GLUT-4	: <i>Glucose Transporter-4</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HO-1	: <i>Heme Oxygenase 1</i>
H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
HOCl	: Asam Hipoklorit
HSL	: <i>Hormone Sensitive Lipase</i>

HSP	: <i>Heat Shock Protein</i>
IDDM	: <i>Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-2	: <i>Interleukin-2</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IFN- α	: <i>Interferon-alfa</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
IR	: <i>Insulin Receptor</i>
IRS-1	: <i>Insulin Receptor Substrat-1</i>
LAKESLA	: Lembaga Kesehatan Kelautan
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LIF	: <i>Leukemia Inhibitor Factor</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
LPS	: Lipopolisakarida
MDA	: <i>Malondialdehida</i>
MEPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MPO	: Mieloperoksida
mRNA	: <i>messenger Ribonucleid acid</i>
MTP	: <i>Mitochondrial Transition Pore</i>
NADH	: <i>Nicotinamide Dinucleotide Dehidrogenase</i>
NIDDM	: <i>Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
O ₂	: Oksigen
O ₂ [*]	: Superoksida
¹ O ₂	: Singlet Oksigen
OAD	: Oral Anti Diabetic

*OH	: <i>Hidroksil</i>
OHB	: <i>Oksigen Hiperbarik</i>
8-OhdG	: <i>8 hydroxy-deoxy guanosine</i>
ONOO ⁻	: <i>Anion peroksinitrit</i>
PKA	: <i>Protein Kinase A</i>
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
RNA	: <i>Ribonucleid acid</i>
RUBT	: <i>Ruang Udara Bertekanan Tinggi</i>
ROO*	: <i>Peroksil</i>
SOD	: <i>Superoksida dismutase</i>
SOR	: <i>Species Oksigen Reaktif</i>
TCA	: <i>Thiochloroacetic Acid</i>
THT	: <i>Telinga Hidung Tenggorokan</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor- alfa</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

**BAB 1
PENDAHULUAN**

BABI PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Pada saat ini penggunaan terapi OHB (Oksigen Hiperbarik) pada berbagai penyakit semakin meluas. Banyak penelitian yang berusaha mengungkap efek terapi OHB terhadap berbagai macam penyakit terutama diabetes mellitus (Oriani, 1996). Terapi OHB 2,4 ATA 100% O₂ 3X30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari terbukti meningkatkan kadar insulin pada penderita diabetes mellitus tipe 2 (Mudjiono, 1999); meningkatkan imunitas pada penderita rhinitis alergika (Avongsa, 2002); menurunkan radikal bebas dan meningkatkan antioksidan pada wanita pra lanjut usia sehat (Satria, 2001). Namun sampai saat ini efek OHB 2,4 ATA 100% O₂ 3X30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari terhadap penurunan radikal bebas pada penderita diabetes mellitus tipe 2 belum diketahui.

Penjelasan penurunan radikal bebas di mitokondria pada diabetes mellitus tipe 2 yang mendapat terapi OHB secara mendalam sangat diperlukan, terutama untuk mengetahui mekanisme yang mendasari penurunan radikal bebas di mitokondria. Diabetes mellitus tipe 2 merupakan suatu penyakit metabolik yang ditandai hiperglikemi akibat kelainan sekresi insulin oleh sel beta pankreas, resistensi insulin atau keduanya dan diasosiasikan dengan kerusakan mitokondria (Sudoyo, 2003; Merentek, 2006). Mitokondria merupakan sumber energi sel tempat pembentukan ATP. Dalam proses sintesa ATP dihasilkan SOR (Spesies Oksigen Reaktif) (Widodo, 2003). Radikal bebas di mitokondria sangat diperlukan untuk proses awal reaksi biokimia tubuh (Niwa, 1997). Pada kadar fisiologis atau kadar rendah SOR berperan

sebagai sinyal transduksi pada *growth factors* dan *cytokines* (Thannickal, 2000; Widodo, 2003). Namun pada kadar yang berlebih dapat berdampak pada kehidupan sel yang dapat merusak molekul lipid, protein, dan DNA yang ada didalam atau diluar mitokondria (Wilhelm, 1990; Halliwell, 1999; Widodo, 2003). SOR dapat memecah hidroperoksi asam linoleat penyusun membran sel, sehingga sel dapat terjadi nekrosis (Wilhelm, 1990; Halliwell, 1999). SOR juga dapat merusak *poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)* yang menyebabkan proses apoptosis (Halliwell, 1999; Shen, 2001). Dengan memperhatikan manfaat dan kebutuhan, maka efek terapi OHB terhadap metabolisme tubuh harus dikaji.

Keberhasilan pemanfaatan oksigen hiperbarik sangat bergantung pada dosis yang diberikan, meliputi : *duration, frequency, and pressure* (Oriani, 1996). Paparan oksigen hiperbarik sebesar 2,4 ATA 100% O₂ (tekanan tinggi dan oksigen konsentrasi tinggi) akan menyebabkan meningkatnya SOR sebagai akibat respon biologis terhadap adanya stressor pada awal paparan / fase alarm (Thibaut, 1990; Cotran, 1999). Sel yang mengalami stres dapat menghasilkan protein tertentu yang disebut stres protein. Protein ini dihasilkan sebagai upaya sel untuk melindungi diri agar tidak mati, sehingga muncul *Heat Shock Protein (Hsp)* sebagai respon terhadap stimulus yang dapat mengganggu kehidupan sel (Cotran, 1999; Rosdiana dan Jusman, 2002). Hsp berperan dalam fungsi seluler dasar seperti pelipatan protein, lalu lintas protein dan translokasi protein pada membran yang mengaktivasi reseptor (Rosdiana dan Jusman, 2002; Qi dan Pekala, 2002). Aktivasi reseptor oleh ligan mengawali sinyal transduksi (Qi dan Pekala, 2000). Pengaruh pada sinyal transduksi, TNF- α meregulasi sinyal insulin melalui aktivasi ekspresi gen yang mengatur transport glukosa secara langsung melalui peningkatan fosforilasi dari *tyrosine kinase* dan *insulin receptor substrat -1 (IRS-1)* akan meningkatkan translokasi Glut-4 (Wijaya,

1997; Qi dan Pekala, 2000). Peningkatan translokasi Glut 4 menyebabkan perbaikan ambilan glukosa sehingga glukosa darah turun (Merentek, 2006). Hubungan antara resistensi insulin dengan metabolisme trigliserida adalah insulin selain berperan menstimulasi pengambilan glukosa, juga mempunyai kerja pada *lipoprotein lipase* (LPL) (Wijaya, 1997). Perbaikan reseptor insulin juga akan terjadi penurunan suplai asam lemak bebas (FFA) ke hati, dimana FFA (*Free Fatty Acid*) merupakan substrat utama untuk sintesis trigliserida dihati, sehingga lebih sedikit terbentuk LDL dan tahan terhadap oksidasi oleh radikal bebas (Wijaya, 1997). Kerusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel, dimana reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA : *poly unsaturated fatty acid*) (Gitawati, 2008). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel (Widodo, 2003).

Semakin banyak orang yang menggunakan terapi OHB untuk kasus klinik yang telah dirasakan manfaatnya secara nyata. Keuntungan penggunaan terapi OHB ini pada penderita diabetes mellitus tipe 2 sebagaimana dikutip dalam (Wijayanto, 2000) adalah memperbaiki komplikasi kardiovaskuler (Kakhanovskii, 1980); memberikan efek hipoglikemia, peningkatan sensitivitas insulin, percepatan stabilisasi metabolisme karbohidrat (Kakhanovskii, 1981); perbaikan pada penderita ulkus diabetik (Longoni, 1987). Tetapi masih terdapat pendapat yang kontradiktif, bahwa pemberian oksigen dengan tinggi dapat meningkatkan radikal bebas, karena penggunaan oksigen 100% merupakan sumber dari senyawa radikal bebas reaktif turunan dari oksigen (SOR) yang diyakini sebagai penyebab dari berbagai penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus, hipertensi, rheumatoid. Akan tetapi terapi OHB memiliki aplikasi operasional dan terapeutik yang luas dan sangat bermanfaat yang masih harus dieksplorasi lebih lanjut untuk mendapatkan manfaat yang lebih

menguntungkan (Mahdi, dkk., 1991). Atas dasar manfaat yang sudah ada, maka diharapkan terapi OHB 2,4 ATA 100% O₂ 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari dapat menurunkan radikal bebas pada penderita diabetes mellitus tipe 2.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan perubahan pada kelompok yang diterapi OHB hari ke-5, OHB hari ke-10 dengan dosis terapi 2,4 ATA 100 % O₂ 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari dapat menurunkan radikal bebas (MDA), trigliserida, dan gula darah pada penderita diabetes mellitus tipe 2.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan perubahan perbedaan efek OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 dengan dosis terapi OHB 2,4 ATA 100% O₂ 3 x 30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut terhadap penurunan radikal bebas pada penderita diabetes mellitus tipe 2.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan perbedaan perubahan efek terapi OHB hari ke-5 dan OHB hari ke-10 dengan dosis terapi OHB 2,4 ATA 100 % O₂ 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari dapat menurunkan radikal bebas (MDA), trigliserida, dan gula darah pada penderita diabetes mellitus tipe 2.
2. Mendapatkan pola kontribusi variabel MDA dan gula darah terhadap efek OHB.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat memberikan bukti empiris terhadap : penurunan radikal bebas (MDA), trigliserida dan gula darah pada penderita diabetes mellitus tipe sesudah mendapat terapi OHB.
2. Sebagai dasar rekomendasi untuk terapi OHB pada penderita diabetes mellitus tipe 2.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2**TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Oksigenasi Hiperbarik**

Oksigenasi hiperbarik adalah pemberian oksigen bertekanan tinggi untuk pengobatan yang dilaksanakan dalam ruang udara bertekanan tinggi (RUBT). Individu yang mendapat terapi OHB adalah suatu keadaan dimana individu berada di dalam ruangan udara bertekanan tinggi (lebih besar dari 1 ATA). Biasanya tekanan yang diberikan 2-3 ATA untuk kasus klinik, sedangkan pada umumnya tekanan yang biasa diberikan sehari-hari di Lakesla untuk kasus klinik adalah 2,4 ATA (Modifikasi Guritno: Wattel, 1997).

2.2 Aspek Fisika Hiperbarik

Atmosfer terdiri dari campuran gas 20 % oksigen, 78,08 % nitrogen, 0,04 % CO₂ dan sebagian kecil gas lain (Jain, 1996).

Untuk menerangkan aspek fisika gas hiperbarik digunakan hukum fisika tentang gas sebagai berikut :

1. Hukum Dalton, mengatakan bahwa tekanan suatu gas campuran berbanding lurus dengan proporsi gas tersebut terhadap volume total campuran gas itu. Tekanan parsial suatu gas = (tekanan absolut) x (proporsi terhadap volume total gas). Jadi tekanan parsial oksigen (PO₂) di udara = $(21/100) \times (760 \text{ mmHg}) = 160 \text{ mmHg}$.
2. Hukum Henry, menyatakan bahwa jumlah gas yang larut dalam cairan berbanding lurus dengan tekanan gas dan koefisien kelarutan gas tersebut.

Koefisien kelarutan berbeda pada tiap jenis cairan dan tergantung pada temperatur dimana kelarutan berbanding terbalik terhadap temperatur.

Kelarutan gas respirasi pada temperatur tubuh adalah :

O₂ : 0,024 ml O₂/ml darah/atm PO₂

CO₂ : 0,5 ml CO₂/ml plasma/atm PCO₂

N₂ : 0,067 ml N₂/ml plasma/atm PN₂

Disini tampak bahwa CO₂ jauh lebih mudah larut daripada oksigen.

2.3 Efek Fisiologi Hiperbarik

Oksigen yang dibutuhkan oleh tubuh berasal dari udara luar, dan untuk sampai ke dalam sel harus melalui paru, sistem kapiler darah, kemudian melewati cairan interstitial dan intraseluler akhirnya masuk dalam sistem seluler. Oksigen dalam sel memasuki proses utilisasi di dalam peroksisom, retikulum endoplasma dan mitokondria (Jain, 1996).

2.3.1 Fase Respirasi

Pada kondisi hiperbarik pertukaran gas respirasi terjadi melalui beberapa tahapan (Jain, 1996) :

1. Fase ventilasi merupakan fase penghubung antara lingkungan udara luar dengan fase transportasi. Oksigen diabsorpsi ke dalam darah, mengalir melalui paru dan memasuki sirkulasi sistemik. Gangguan yang terjadi pada fase ini akan menyebabkan hipoksia jaringan.
2. Fase difusi merupakan pembatas fisik antara fase transportasi dengan fase ventilasi dan utilisasi, dan biasanya dianggap pasif. Gangguan fase ini dapat mempengaruhi pertukaran gas.

3. Fase transportasi merupakan penghubung antara lingkungan luar dengan organ (sel dan jaringan). Perbedaan PAO_2 (104 mmHg) dan PVO_2 (40 mmHg), menyebabkan oksigen berdifusi ke dalam paru. Dalam keadaan normal sekitar 79 % oksigen ditransportasi oleh hemoglobin, dan hanya sekitar 3 % larut dalam plasma darah. Gangguan pada fase ini terjadi bila ada gangguan aliran darah lokal maupun sistemik, kelainan hemoglobin dan adanya shunt anatomis maupun fisiologis. Dengan menaikkan tekanan gas di saluran pernafasan gangguan ini dapat diatasi.
4. Fase utilisasi, pada fase ini terjadi metabolisme seluler. Jika terjadi gangguan pada fase ventilasi dan transportasi dapat mengganggu fase ini.

2.3.2 Fase Transportasi dan Utilisasi Oksigen.

1. 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 ± 2000 mmHg, tekanan O_2 meningkat 10 sampai 13 kali dari normal dalam plasma. Oksigen yang larut dalam plasma sebesar ± 6 vol % (6 ml O_2 per 100 ml plasma) yang cukup untuk memberi hidup meskipun tidak ada darah " *life without blood*".

2. Hemoglobin (Hb).

Satu gram Hb dapat meningkat 1,34 ml O_2 , sedangkan konsentrasi normal dari Hb adalah ± 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 ± 100 mmHg, maka saturasi Hb dengan O_2 ± 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 .

3. 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 ± 20 vol % oksigen, sedangkan darah vena mengandung ± 14 vol % oksigen, sehingga ± 6 vol % oksigen yang dipakai oleh jaringan. Dengan curah jantung sebesar 5 liter per menit, maka konsumsi jaringan adalah ± 300 ml per menit. Setiap jaringan mempunyai konsumsi O_2 tertentu yang berbeda satu dengan yang lain, akan tetapi konsumsi sebesar 6 vol % dapat dianggap kebutuhan rata-rata.

4. Efek Kardiovaskuler

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

Pada jaringan yang normal terjadi vasokonstriksi yang disebabkan oleh karena naiknya PO_2 arterial. Efek vasokonstriksi ini kelihatannya merugikan, namun perlu diingat bahwa pada $PO_2 \pm 2000$ mmHg, oksigen yang tersedia dalam tubuh adalah 2 kali lebih besar dari biasanya (Jain, 1996).

2.4 Pengaruh Oksigen Hiperbarik

2.4.1 Pengaruh Terhadap Kelarutan Oksigen Dalam Darah

Pada tekanan normal (normobarik) hanya sedikit oksigen yang larut dalam darah. Tetapi pada tekanan tinggi (hiperbarik) memungkinkan peningkatan kelarutan oksigen, misalnya 6 vol % dalam plasma, yang mana cukup untuk memenuhi kebutuhan oksigen tubuh. (Bennet, 1997).

2.4.2 Pengaruh Biokimiawi

Perubahan parameter biokimiawi tubuh merupakan reaksi terhadap paparan OHB, dibagi atas 3 tingkat yaitu :

1. Tingkat adaptasi, merupakan tingkat inisiasi terhadap paparan OHB yang ditandai dengan peningkatan kadar SOR, yang besarnya tiap individu sangat berbeda.
2. Tingkat respon adekuat, merupakan tingkat kedua yang ditandai dengan peningkatan kadar enzim-enzim antioksidan yang merupakan mobilisasi sistem pertahanan tubuh.
3. Tingkat respon inadkuat, terjadi setelah paparan OHB yang berkepanjangan dan intensif, ditandai dengan peningkatan kadar SOR yang merupakan diskoordinasi antara sistem pertahanan tubuh (Efuni, *et al.*, 1984).

2.5. Diabetes Mellitus Tipe 2 (NIDDM)

Diabetes Mellitus tipe 2 merupakan suatu penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemi akibat kelainan sekresi insulin oleh sel beta pankreas, gangguan kerja insulin (resistensi insulin) atau keduanya (Merentek, 2006)

2.5.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus Tipe 2

Klasifikasi menurut WHO, disebut 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 75 g, antara 140-199 mg/dl. Disebut diabetes jika kadar glukosa darah puasa >126 mg/dl, atau bila kadar glukosa darah sesudah pembebanan glukosa 75 g > 200 mg/dl (Merentek, 2006).

Tabel 2.1 Klasifikasi Genetik DM Tipe 2 (NIDDM) (Foster dan Ungar, 2006)

- I. *Genetically characterized forms of NIDDM*
 - A. *Maturity-onset diabetics of the young (MODY)*
 1. *MODY 1-linked to chromosome 20q*
 2. *MODY 2-linked to glucokinase (7p13-15)*
 3. *MODY 3-linked to chromosome 12q*
 4. *Others*
 - B. *Defects in the insulin gene (11p15)*
 1. *Familial hyperproinsulinemia*
 2. *Mutant insulin molecules*
 - C. *Defects in the insulin receptor (10p13)*
 1. *Leprechaunism*
 2. *Type A syndrome of insulin resistance*
 3. *Rabson-Mendenhall syndrome*
 - D. *Mutation in mitochondrial gene for tRNA*
 1. *Maternally inherited diabetes with neurosensory deafness*
 2. *MELAS Syndrome*

E. Mutation in GLUT 2 glucose transporter (3q26) (one case only)

II. Genes involved in ordinally NIDDM

A. Genes with some evidence for involvement

1. *HLA locus-DR4 (6p21-23)-in elderly persons with NIDDM only*
2. *Glucagon receptor gene (17q25)*
3. *Insulin receptor substrate-1 (2q76)*
4. *Glycogen synthase (19q13)*
5. *Intestinal fatty acid-binding proteins (4q)*
6. *RAD (2q3637)*

B. Genes for which significant involvement has been ruled out

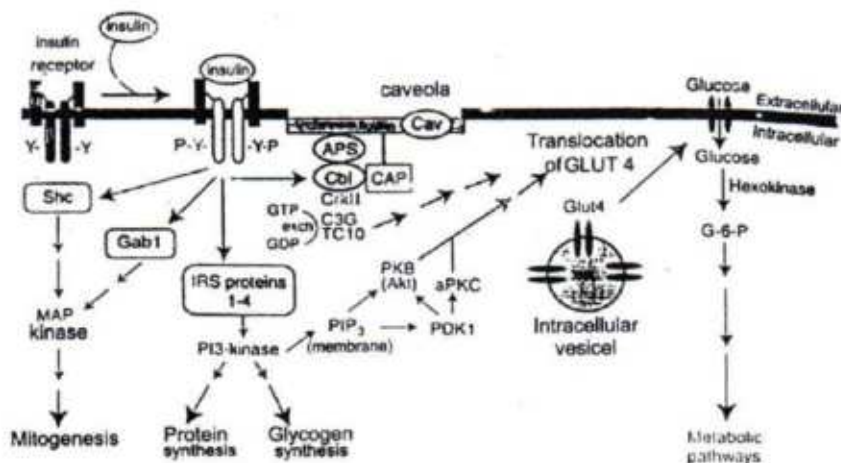
1. *Insulin gene (11p15)*
2. *MODY genes (20q, 7p, 12q)*
3. *ATP-sensitive K⁺ channel (21q22)*
4. *Glucagon like peptide-1 (GLP-1) receptor (6p21)*
5. *GLUT 2 (3q36)*
6. *GLUT 4 (17p13)*
7. *Insulin receptor (19p13)*

2.5.2 Pengertian Resistensi Insulin

Resistensi insulin adalah suatu keadaan terjadinya gangguan respon metabolik terhadap kerja insulin, akibatnya untuk kadar glukosa darah tertentu dibutuhkan kadar insulin yang lebih banyak daripada normal untuk mempertahankan keadaan normoglikemi (euglikemi). Resistensi insulin dapat disebabkan oleh gangguan *pre receptor* : dapat disebabkan oleh antibodi insulin atau gangguan pada insulin, gangguan *receptor* : dapat disebabkan oleh jumlah reseptor yang berkurang atau kepekaan reseptor yang menurun, sedangkan gangguan *post receptor* : disebabkan

oleh gangguan pada proses fosforilasi dan proses sinyal transduksi di dalam sel otot. Daerah utama terjadinya resistensi insulin adalah *post receptor* sel target di jaringan otot rangka dan hati. Kerusakan *post receptor* ini menyebabkan kompensasi peningkatan sekresi insulin oleh sel beta, sehingga terjadi hiperinsulinemi pada keadaan puasa maupun *postprandial* (Merentek, 2006).

Pada tingkat otot skelet, kadar asam lemak bebas yang tinggi dapat menyebabkan penurunan pemakaian glukosa yang distimuli oleh insulin melalui kompetisi substrat (siklus glukosa lemak). Penyimpanan maupun oksidasi glukosa dihambat asam lemak bebas. Pada penderita obesitas yang disertai resistensi insulin ditemukan adanya akumulasi trigliserida dan asam lemak otot (*intramyoseluler*) yang diduga menghambat kerja insulin pada tingkat seluler dengan menghambat translokasi *glucose transporter 4 (Glut 4)* intraseluler ke membran sel. Sedangkan trigliserida pada hati (*steatosis*) akibat peningkatan distribusi asam lemak bebas melalui sirkulasi ke hati dengan meningkatkan glukoneogenesis yang akan menyebabkan kegagalan kerja insulin (Merentek, 2006).



Gambar 2.1 Glut 4 pada metabolisme glukosa di jaringan otot dan sel adipose (Davis, 2007)

2.5.3 TNF- α

TNF- α merupakan *cytokine* yang tersusun atas 157 residu asam amino dan diproduksi oleh makrofag yang distimulasi oleh endotoxin bakteri. TNF- α merupakan alat mediator utama terhadap respon reaksi inflamasi dan penyembuhan luka. *Cytokine* ini diproduksi oleh berbagai macam tipe sel meliputi tipe sel meliputi monosit, makrofag, limfosit T, limfosit B, sel-sel NK dan sel-sel lain yang distimulasi oleh endotoxin atau produk mikroba yang lain (Qi dan Pekala, 2000).

TNF- α sebagai mediator penting dalam proses inflamasi berperan dalam meningkatkan respon inflamasi endotel. Fungsi fisiologis TNF- α adalah menstimulasi proses penarikan neutrofil dan monosit ke daerah infeksi dan mengaktifkan sel-sel ini untuk eradikasi mikroba. Beberapa fungsi fisiologis TNF- α adalah :

1. Menyebabkan sel-sel endotel vaskuler mengekspresikan reseptor permukaan, membuat sel-sel endotel melekat pada leukosit terutama neutrofil kemudian monosit dan limfosit.
2. Menstimulasi sel endotel dan makrofag untuk mensekresikan sitokin yang disebut *chemokynes* akan menginduksi kemotaksis dan penarikan leukosit.
3. Menginduksi terjadinya proses apoptosis pada sel.
4. Produksi yang lama dari TNF- α menyebabkan perubahan metabolik seperti *cachexia*.
5. Menyebabkan trombosis intravaskular (Qi dan Pekala, 2000).

TNF- α dilaporkan menyebabkan gangguan ambilan glukosa yang dirangsang insulin pada jaringan otot dan sel adipose serta menekan translokasi *glucose transporter 4* (Glut 4); menurunkan aktifitas *lipoprotein lipase* (LPL), dan meningkatkan *lipogenesis* di hati. Jadi TNF- α berperan baik secara lokal maupun sistemik pada resistensi insulin yang berhubungan dengan obesitas dan dianggap

sebagai mediator resistensi insulin pada obesitas karena kadar leptin plasma berkorelasi dengan total massa lemak tubuh (Merentek, 2006).

2.5.4 TNF- α Pada Jaringan Adiposa

Sel lemak disamping sebagai sumber sitokin yang salah satunya adalah TNF- α juga merupakan jaringan target yang diekspresikan dari sel lemak adiposit. Terdapat korelasi yang signifikan antara mRNA TNF- α dan BMI. BMI yang tinggi akan diikuti dengan peningkatan TNF- α dalam sirkulasi, dan akan menurun secara signifikan dengan penurunan berat badan. Dengan bertambah besarnya sel lemak maka sitokin TNF- α juga akan meningkat, hal ini terjadi pada orang yang mengalami obesitas. Ada hubungan yang kuat antara mRNA TNF- α dengan hiperinsulin. Ternyata TNF- α mempunyai respon terhadap mekanisme molekuler yaitu dengan penurunan aktifitas insulin khususnya pada obesitas. Dalam hal ini melibatkan TNF- α dalam menginduksi *phosphorilase serine* dari *insulin receptor substrat-1* (IRS-1), walaupun hal ini terjadi heterogenitas dalam nilai mRNA diantara subyek yang mengalami obesitas, namun pada penurunan berat badan, ekspresi TNF- α mRNA dan level protein secara konsisten menurun sama besar pada jaringan lemak (Qi dan Pekala, 2000).

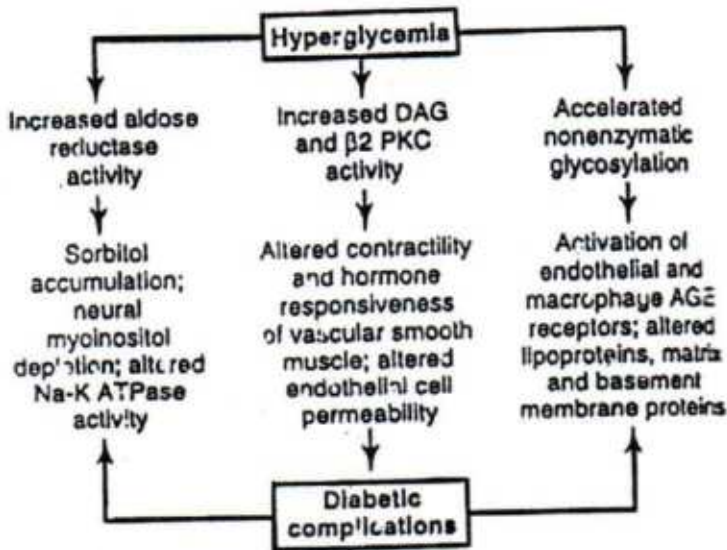
Ekspresi TNF- α berkorelasi negatif terhadap aktifitas LPL di jaringan lemak dalam penurunan berat badan, hal tersebut tidak ada hubungannya dengan yang lain, yaitu ekspresi TNF- α sel lemak dilibatkan dalam regulasi LPL dalam penurunan berat badan. Peran lokal dari TNF- α adalah terbatasnya pemasukkan asam lemak melalui LPL, berikutnya terjadi hipertropi sel lemak. TNF- α mempunyai banyak aktifitas didalam jaringan lemak antara lain penurunan ekspresi Glut-4 dan peningkatan hormon *sensitive lipase* (Qi dan Pekala, 2000).

2.5.5 Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2

Pada diabetes mellitus tipe 2 didapatkan adanya dua kelainan fungsi yaitu gangguan sekresi insulin yang abnormal, dan gangguan resistensi insulin (Foster, 1998; Merentek, 2006).

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-sel lemak akan mengikat gula darah, yang mengakibatkan gula darah normal (Witarto, 2005).

Mayoritas (90 – 95 %) merupakan diabetes mellitus tipe 2 (NIDDM), sisanya diabetes mellitus tipe 1 (IDDM) (Walujani, 2003). Diabetes mellitus tipe 2 terjadi jika insulin hasil produksi pankreas tidak cukup atau sel lemak dan otot menjadi kebal terhadap insulin (resisten) sehingga terjadi gangguan pengiriman glukosa ke sel tubuh. Faktor pencetus utama adalah obesitas (kegemukan), sedangkan faktor yang lain adalah : pola makan yang salah, penuaan dan stres yang mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Selain resistensi insulin juga berhubungan dengan terjadinya penurunan reseptor insulin, lebih lanjut dikatakan bahwa tidak selalu orang gemuk menderita diabetes mellitus tipe 2 (Foster, 1998). Mungkin juga terjadi akibat salah gizi (malnutrisi) selama kehamilan, selama masa kanak-kanak, dan pada masa usia dewasa (Yunia, 2007).



Gambar 2.2 Komplikasi diabetes mellitus akibat hiperglikemi (Foster and Ungar, 2006).

2.5.6 Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus

Kriteria diabetes mellitus dan gangguan toleransi glukosa menurut WHO tahun 1985 dalam (Tjokroprawiro, 1994) adalah sebagai berikut :

- I. Diagnosis Diabetes Mellitus apabila :
 - a. Terdapat gejala diabetes mellitus ditambah dengan
 - b. Salah satu dari : GDP 120 mg/dl, 2 jam PP 200 mg/dl, atau glukosa darah acak > 200 mg/dl.
- II. Diagnosis Diabetes Mellitus apabila :
 - a. Tidak terdapat gejala diabetes mellitus, tetapi
 - b. Terdapat 2 hasil dari GDP 120 mg/dl, 2 jam PP 200 mg/dl atau random 200 mg/dl.
- III. Diagnosis gangguan toleransi glukosa (GTG) apabila :

GDP < 120 mg/dl dan 2 jam PP 140 – 200 mg/dl.

- IV. Untuk kasus yang meragukan dengan hasil GDP < 120 mg/dl dan 2 jam PP > 200 mg/dl, maka ulangi pemeriksaan laboratorium sekali lagi, dengan persiapan minimal 3 kali dengan diet karbohidrat lebih dari 150 gram perhari dan kegiatan fisik seperti biasa, kemungkinan hasilnya adalah :
- DM, apabila hasilnya sama atau tetap, yaitu GDP < 120 mg/dl dan 2 jam PP 200 mg/dl, atau apabila hasilnya memenuhi kriteria I atau II.
 - GTG, apabila hasilnya cocok dengan kriteria III.

2.5.7 Sekresi Insulin oleh Sel Beta Pankreas

Sekresi insulin oleh sel beta pankreas tergantung oleh 3 faktor utama yaitu : kadar glukosa darah, *ATP sensitive K channels* dan *voltage sensitive Ca channels* sel beta pankreas (Merentek, 2006).

Mekanisme kerja ketiga faktor ini sebagai berikut : pada keadaan puasa saat kadar glukosa darah turun, *ATP sensitive K channels* di membran sel beta akan terbuka sehingga ion kalium akan meninggalkan sel beta (*K-efflux*), dengan demikian mempertahankan potensial membran dalam keadaan hiperpolar sehingga *Ca channels* tertutup, akibatnya kalsium tidak masuk ke dalam sel beta sehingga perangsangan sel beta mensekresi insulin menurun (Merentek, 2006).

Sebaliknya pada keadaan setelah makan, kadar glukosa darah meningkat akan ditangkap oleh sel beta melalui *glucose transporter 2* (GLUT 2) dan dibawa ke dalam sel. Di dalam sel, glukosa akan mengalami fosforilasi menjadi glukosa 6 fosfat (G6P) dengan bantuan enzim glukokinase. Glukosa 6 fosfat kemudian akan mengalami glikolisis dan akhirnya akan menjadi asam piruvat (Merentek, 2006).

Dalam proses glikolisis ini akan dihasilkan 6 – 8 ATP. Penambahan ATP akan meningkatkan rasio ATP/ADP yang akan menutup terowongan kalium. Dengan demikian kalium akan tertumpuk dalam sel dan terjadilah depolarisasi membran sel ,

sehingga membuka terowongan kalsium dan masuk ke dalam sel. Dengan meningkatnya kalsium, akan terjadi translokasi granula insulin ke membran dan dilepaskan ke dalam darah (Merentek, 2006).

2.5.8 Glukosa Darah

Glukosa darah adalah substrat utama dalam metabolisme kebanyakan sel, digunakan sebagai energi dan disimpan dalam bentuk glikogen (Girard, 1995). Umumnya tingkat glukosa darah antara 4 – 8 mmol/l (70-150 mg/dl) (Anonim, 2007).

Kadar glukosa darah diatur melalui mekanisme umpan balik negatif untuk mempertahankan keseimbangan di dalam tubuh. Kadar glukosa di dalam darah dimonitor oleh pankreas. Jika konsentrasi glukosa menurun, karena dikonsumsi untuk memenuhi kebutuhan energi tubuh, pankreas melepaskan glukagon, hormon yang menargetkan sel hati. Kemudian sel ini mengubah glikogen menjadi glukosa. Glukosa dilepaskan ke dalam aliran darah, hingga meningkatkan kadar glukosa darah. Apabila kadar glukosa darah meningkat, karena perubahan glikogen, atau karena pencernaan makanan, insulin dilepaskan dari butir-butir sel yang terdapat di dalam pankreas, menyebabkan hati mengubah glukosa menjadi glikogen (Anonim, 2007)

2.6 Mitokondria

2.6.1 Sintesa ATP oleh Mitokondria

Sintesa ATP oleh mitokondria melalui 2 proses yaitu :

1. Perubahan karbohidrat dan asam lemak melalui *piruvat dehidrogenase complex* dan *citric acid cycle* yang menghasilkan ATP (dalam jumlah sedikit) dan ion hidrogen dan bentuk NAD dan FADH₂ yang kesemuanya terjadi dalam matriks mitokondria yang melibatkan enzim seperti *complex piruvat dehidrogenase*, *citrate synthase* dan *complex alfa ketoglutarat dehidrogenase*.

2. Rantai respirasi mitokondria atau rantai elektron transport, pada dasarnya proses ini melibatkan ion hidrogen dan oksigen yang menghasilkan ATP dalam jumlah yang sangat banyak dan sangat terkontrol, proses menghasilkan energi melalui oksigen ini dikenal dengan proses fosforilasi oksidasi (Widodo, 2003).

2.6.2 Penggunaan Oksigen pada Proses Fosforilasi Oksidasi

Penggunaan oksigen pada proses fosforilasi oksidasi melibatkan 5 (lima) kompleks protein yang sangat spesifik yang berada di dalam membran lipid bagian dalam yaitu :

1. Komplek I , menerima NADH dan menyumbangkan elektron pada rantai respirasi.
2. Komplek II, menerima elektron dari FADH₂ kemudian melalui coenzim Q ditransfer ke kompleks III, menggunakan sebagian energi dari elektron untuk memompa ion H dari matrik mitokondria ke ruang antar membran.
3. Elektron dari kompleks III ditransfer ke kompleks IV melalui elektron transfer carrier, *cytochrome C* dan energi yang dihasilkan oleh kompleks IV digunakan untuk memompa ion H dari matrik ke dalam ruang antar membran.
4. Energi yang dihasilkan dari perbedaan gradien ini digunakan oleh kompleks V (suatu ATP *synthase*) memompa kembali ion H ke dalam matrik mitokondria dan merubah ADP menjadi ATP suatu energi kimia yang kemudian ditransfer ke dalam bagian sel yang memerlukannya (Widodo, 2003).

2.6.3 Kegagalan Sintesa ATP Oleh Mitokondria

Apabila terjadi kegagalan fungsi elektron transport pada salah satu kompleks tersebut akan terjadi penurunan atau tidak diproduksinya ATP. Hal ini dapat terjadi apabila secara genetik diturunkan mutasi DNA mit yang mengakibatkan sintesa ATP.

Mutasi DNA mit dapat pula terjadi apabila terdapat radikal bebas yang berlebihan sebagai akibat proses fosforilasi oksidasi atau proses fosforilasi oksidasi yang terganggu (Widodo, 2003).

Pada proses fosforilasi oksidasi selalu diproduksi radikal bebas seperti radikal superoksida, hidrogen peroksida dan hidroksil. Produksi ATP juga dipengaruhi oleh berbagai hal antara lain pada kekurangan oksigen seperti pada iskemia dan apabila kadar Ca dalam matrik mitokondria sangat meningkat. Kurangnya produksi ATP ini akan berakibat timbulnya berbagai macam penyakit yang digambarkan sebagai gangguan kontraksi otot bergaris, kelainan neurologis, penurunan produksi insulin, gangguan pada sekresi *neurotransmitter* yang berperan pada berbagai proses neurogeneratif di otak seperti penyakit *Hutchington, Alzheimer, Parkinson* dan proses menua, selain terkait dengan penyakit *metabolic diabetic mellitus* dikaitkan dengan berbagai *syndrome LHON, MELAS, KSS, CPEO, MERRF* (Widodo, 2003).

2.6.4 SOR Sebagai Produk Samping Aktivitas Mitokondria

Kebanyakan proses biokimia didalam sel walaupun dalam keadaan fisiologis akan menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas dapat terjadi pada proses biokimia di organel sub seluler, misalnya pada proses respirasi mitokondria, sistem elektron transport pada mikrosom, atau yang terjadi dalam proses enzimatik dalam sitosol seperti xanthin oksidase (Widodo, 2003; Halliwell, 1995). Mitokondria secara kuantitatif merupakan tempat produksi utama dari SOR didalam sel, diperkirakan 1 % oksigen yang digunakan untuk respirasi mitokondria diubah menjadi radikal bebas superoksida (O_2^*). Pada keadaan fisiologis normal, konsentrasi radikal superoksida dalam mitokondria sebesar 8×10^{-12} M (Halliwell, 1995).

Produksi radikal bebas dalam mitokondria apabila tidak dinetralisasi oleh sel akan menyebabkan oksidasi berbagai molekul sel seperti lipid yang ditunjukkan

dengan meningkatnya peroksidasi lemak yang akan dideteksi adanya *malondialdehyde (MDA)*, peroksidasi lemak membran ini akan menyebabkan gangguan fluiditas membran. Kerusakan pada molekul protein dideteksi dengan *Nitrotyrosin* menyebabkan deaktivasi enzim-enzim dan reseptor. Kerusakan basa nukleotida (DNA) dapat dideteksi dengan *8 hydroxy-deoxy guanosine (8-OhdG)* yang menyebabkan mutasi DNA inti atau DNA mitokondria (Widodo, 2003). Oleh adanya SOD (SOD1, SOD2, dan SOD3) radikal superoksida ini akan diubah menjadi H_2O_2 . H_2O_2 yang ada di mitokondria dengan *transition metal* yang tereduksi misalnya : ion Fe (reaksi fenton) akan menghasilkan reaksi radikal hidroksil ($*OH$) yang sangat reaktif dan akan menyebabkan peroksidasi lemak membran mitokondria, hidroksilasi DNA mitokondria, mutasi pada DNA mit dan merusak berbagai protein kompleks yang berfungsi untuk respirasi mitokondria. Selain daripada itu radikal superoksida dengan cepat bereaksi dengan NO^* menghasilkan anion peroksininitrit ($ONOO^-$) yang apabila bereaksi dengan CO_2 akan menyebabkan kerusakan protein melalui pembentukan *nitrotyrosin* dan oksidasi lemak (Halliwell, 1995).

Hidrogen peroksida dengan mudah berdifusi keluar mitokondria kedalam sitoplasma, dimana apabila bereaksi dengan ion Fe akan menghasilkan radikal hidroksil diluar mitokondria dan ini akan menyebabkan peroksidasi lemak membran, kerusakan protein, dan enzim serta dapat menghidroksilasi DNA inti. Efek SOR ini dikontrol sangat ketat oleh berbagai sistem antioksidan enzimatik seperti *glutation peroksidase* dalam sitoplasma atau dalam mitokondria dan katalase dalam lisosom yang secara aktif merubah H_2O_2 menjadi H_2O . SOR juga dihambat aktivitas merusaknya pada molekul-molekul protein, lemak, dan DNA oleh adanya antioksidan non enzimatik seperti vitamin E, vitamin C, karetenoid. Keberadaan sistem proteksi

ini akan mencegah stress oksidatif terhadap sel, apabila hal ini tidak dapat diatasi maka akan terjadi proses kematian sel (Widodo, 2003).

Salah satu *second messenger* yang distimulasi oleh adanya SOR adalah ion kalsium. Ion ini mengatur banyak proses biologis dalam sel seperti kontraksi otot, pembelahan, transkripsi gen, pertumbuhan, sekresi *neurotransmitter*, sekresi hormon, dan mediator. Kalsium juga mengatur berbagai enzim dalam sel seperti proteinkinase, phosphatase, protease, dan proses apoptosis. Kalsium juga menyebabkan terbukanya megakanal *mitochondrial transition pore (MTP)* (Widodo, 2003).

2.7 Oksidan dan Radikal Bebas

Secara umum oksigen dibutuhkan untuk mengaktifkan jaringan baik sel hewan maupun sel manusia (Niwa, 1997). Oksigen yang kita hirup akan diubah secara konstan menjadi senyawa yang sangat reaktif, dikenal sebagai senyawa reaktif oksigen yang diterjemahkan dari *reactive oksigen species (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 (Sauriasari, 2006). Namun radikal bebas oksigen berbeda dari oksigen yang kita hirup melalui nafas. Perbedaannya terletak pada struktur kimianya (Niwa, 1997). Dalam suatu reaksi kimia yang normal dapat terjadi beberapa atom yang terlibat menjadi konfigurasi radikal bebas. Namun konfigurasi radikal bebas tersebut dapat segera dipenuhi pasangan orbit elektronnya oleh atom disekitarnya (Halliwell, 1999).

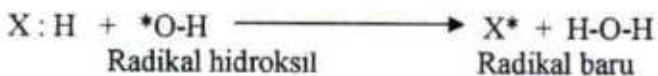
Dalam dunia kedokteran pengertian oksidan dan radikal bebas (*free radical*) sering dibaurkan karena keduanya memiliki sifat yang mirip. Aktifitas kedua jenis

senyawa ini sering menghasilkan akibat yang sama walaupun prosesnya berbeda (Suryohudoyo, 1997).

Oksidan dalam pengertian ilmu kimia adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik elektron. Ion ferri (Fe^{3+}) adalah oksidan :



Sebaliknya radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*). Elektron yang tidak berpasangan cenderung untuk membentuk pasangan, dan ini terjadi dengan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal baru :



Radikal bebas dan oksidan mempunyai sifat yang sama yaitu kecenderungan untuk menarik elektron, oleh karena itu radikal bebas disebut juga oksidan. Akan tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan oksidan yang bukan radikal. Radikal bebas mempunyai sifat reaktivitas yang tinggi dan cenderung untuk membentuk radikal baru (Amin, 1996; 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 maka dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan memicu terjadinya berbagai macam penyakit (Young dan Woodsite, 2001). Radikal bebas endogen adalah radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh kita, antara lain produk dari proses fisiologis normal seperti fosforilasi oksidatif yang menghasilkan ATP di mitokondria dan oksigenasi hemoglobin di eritrosit, atau diproduksi oleh 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).

Seluruh reaksi berantai radikal bebas dapat dijabarkan menjadi tiga tahap sebagai berikut, contoh reaksi yang menyangkut radikal hidroksil :

1. Tahap inisiasi :



2. Tahap propagasi :



3. Tahap terminasi :



Dengan demikian daya perusak radikal bebas jauh lebih besar dibandingkan dengan oksidan biasa. Radikal bebas umumnya tidak stabil dan berumur sangat pendek (Amin, 1996).

2.7.1 *Reactive Oxygen Species (ROS)*

ROS merupakan oksidan yang diturunkan dari oksigen (O_2) termasuk radikal oksigen maupun non radikal, sebagai hasil dari berbagai peristiwa biologis maupun patologis dalam tubuh. ROS tersebut adalah sebagai berikut (Marks *et al.*, 2000; Halliwell, 1999) :

1. Superoksida (O₂^{*})

Superoksida dapat terbentuk melalui proses fisiologis seperti produk samping dari rantai transport elektron di mitokondria dan hasil autooksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin di eritrosit (Halliwell, 1999).

Autooksidasi Hb :



Di jaringan, superoksida dibentuk melalui kerja enzim seperti sitokrom P450 reduktase dan xanthin oksidase, atau diproduksi oleh sel inflamatori karena invasi bakteri dengan dikatalisis oleh NADPH oksidase yang memperlihatkan terjadinya ledakan respirasi. Superoksida secara spontan mengalami dismutasi sehingga terbentuk H₂O₂ dan O₂ akan tetapi kecepatan reaksi yang sama ini akan mengalami peningkatan yang luar biasa akibat kerja enzim superoksida dismutase (SOD), pada reaksi ini superoksida bertindak sebagai oksidan sekaligus sebagai reduktan (Murray *et al.*, 2003).

Anion superoksida sangat reaktif tetapi memiliki kelarutan lemak yang terbatas dan tidak dapat berdifusi jauh. Superoksida juga dapat menghasilkan radikal hidroksil yang lebih reaktif melalui reaksi dengan hidrogen peroksida dalam reaksi Haber-Weiss yang memerlukan besi (Marks *et al.*, 2000).

2. Hidroksil (*OH)

Diantara semua radikal oksigen, radikal hidroksil yang paling reaktif dan sangat berbahaya. Radikal hidroksil dapat menjadi inisiator atau pencetus reaksi berantai yang membentuk peroksida lemak dan radikal organik. Radikal hidroksil dapat terbentuk dari hidrogen peroksida yang bereaksi dengan Fe²⁺ atau Cu²⁺ melalui reaksi fenton (Young dan Woodsite, 2001).



Juga dapat terbentuk dari superoksida yang bereaksi dengan hidrogen melalui reaksi Haber-Weiss :



3. Peroksil (ROO^{*})

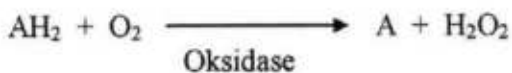
Radikal peroksil merupakan suatu radikal peroksida organik, seperti yang terbentuk pada waktu peroksidasi lemak. Radikal peroksil dapat bereaksi dengan H^{*} lain dan terbentuk radikal baru (Marks *et al.*, 2000).



4. Hidrogen peroksida

H₂O₂ merupakan zat pengoksidasi tapi bukan suatu radikal bebas, dengan adanya Fe²⁺ atau logam transisi lainnya, dapat menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi fenton. Dapat berdifusi dan menembus membran sel (Marks *et al.*, 2000).

H₂O₂ terutama terbentuk karena aktivitas enzim oksidase yang terdapat di dalam retikulum endoplasma (mikrosom) dan peroksisom, enzim tersebut mengkatalis reaksi :



Dalam eritrosit dan jaringan lain, enzim glutathion peroksidase yang mengandung selenium sebagai gugus prostetik akan mengkatalisis penghancuran H₂O₂ serta senyawa hidroperoksida lemak dengan glutathion tereduksi, melindungi membran lemak serta hemoglobin terhadap oksidasi oleh senyawa peroksida. Oleh enzim katalase, H₂O₂ akan diubah menjadi H₂O dan O₂ dimana enzim ini mampu menggunakan satu molekul H₂O₂ sebagai substrat (donor elektron) dan molekul H₂O₂ lain sebagai oksidan (akseptor elektron) (Murray *et al.*, 2003).

5. Asam Hipoklorit (HOCl)

Asam hipoklorit dihasilkan melalui reaksi yang dikatalisis oleh enzim mieloperoksida (MPO), yaitu reaksi antara H_2O_2 dan Cl^- membentuk HClO :



MPO merupakan enzim yang mengandung Fe-hem dan terdapat di dalam granula neutrofil dan sel granulomatosa lainnya, disekresikan sebagai respon terhadap agen yang infeksius, hasilnya digunakan untuk menyerang membran sel dan senyawa lain dari sel bakteri, dan akhirnya lisis. Proses ini menampakkan adanya ledakan respirasi sel (Halliwell, 1999; Marks *et al.*, 2000).

6. Singlet Oksigen (1O_2)

Singlet oksigen merupakan bentuk yang lebih reaktif daripada oksigen biasa (O_2) karena perbedaan pada konfigurasi elektron. Singlet oksigen dapat terbentuk melalui reaksi (Halliwell, 1999) : (1) ion hipoklorit yang dibentuk enzim MPO bereaksi dengan hidrogen peroksida ($OCl^- + H_2O_2 \longrightarrow Cl^- + H_2O + ^1O_2$); (2) dekomposisi endoperoksida aromatik menghasilkan singlet oksigen ; (3) mekanisme Russel, peroksil bereaksi antar peroksil membentuk singlet oksigen.

2.7.2 Sifat Radikal Bebas

Kerusakan sel oleh radikal bebas reaktif didahului oleh kerusakan membran sel dengan terjadinya rangkaian sebagai berikut :

1. Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran (enzim membran, komponen karbohidrat membran plasma sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor.
2. Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transportasi terganggu.

3. Reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA : *poly unsaturated fatty acid*). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain mengubah fluiditas membran, cross linking dan fungsi membran, dalam keadaan yang lebih ekstrim akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Gitawati,2008).

Efek biologi peroksidasi lipid membran bergantung antara lain pada populasi sel yang bersangkutan dan profil asam lemak pada membran fosfolipid. Contoh, membran mitokondria dan mikrosom sensitif terhadap peroksidasi lipid, kandungan PUFA pada fosfolipid membran cukup tinggi. Umumnya semua membran peka terhadap reaksi peroksidasi lipid dalam derajat yang berbeda-beda (Gitawati, 2008).

2.8 Antioksidan

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

Berdasarkan cara kerjanya, antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu : antioksidan pencegah, berfungsi mencegah terhimpunnya senyawa oksidan secara berlebihan dan antioksidan pemutus rantai, berfungsi mencegah reaksi rantai yang berkelanjutan). Berdasarkan kelarutannya, antioksidan dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan lipofilik, bekerjanya pada membran sel, contoh, tokoferol (Vitamin E), beta karoten, ubikuinol, dan flavonoid dan hidrofilik bekerjanya pada sitosol dan cairan luar sel, contoh : vitamin C, glutation dan sistein (Amin, 1996).

Mekanisme kerja antioksidan adalah sebagai berikut :

1. Antioksidan Pencegah (antioksidan primer)

Tujuan utama antioksidan jenis ini adalah mencegah terjadinya 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 dengan adanya ion Fe^{2+} atau Cu^{2+} bebas. Untuk mencegah terbentuknya Fe ialah transferin dan ferritin, sedangkan Cu ialah seruloplasmin dan albumin. Penimbunan $O_2^{\bullet-}$ dicegah oleh enzim SOD yang mengkatalisis reaksi dismutase $O_2^{\bullet-}$ membentuk H_2O dan O_2 . Contoh : superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GSH-PX), katalase (CAT) dan protein pengikat logam.

2. Antioksidan Pemutus Rantai (antioksidan sekunder)

Dalam kelompok ini termasuk vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat), betakaroten dan dua senyawa yang 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. Karena keberadaannya dalam membran, vitamin E dapat bereaksi dengan radikal lipid (L^{\bullet}) dan radikal peroksilipid (LOO^{\bullet}) :



3. Antioksidan tersier yaitu : antioksidan yang mampu mereparasi DNA dan protein-protein yang mengalami kerusakan akibat radikal bebas serta memetabolisasi lipid peroksida (Amin, 1996; Halliwell, 1999).

2.9 Heat Shock Protein (Hsp)

Hsp pertama kali ditemukan pada tahun 1962 oleh Rittosa pada lalat buah (*Drosophila busckii*). Kemudian ternyata Hsp ditemukan pada organisme lain, termasuk manusia sebagai respon terhadap stimulus yang dapat mengganggu kehidupan sel (Rosdiana dan Jusman, 2002). Menurut Albar (2002) sintesa protein pada semua sel akan terganggu oleh stres lingkungan, misal hipertermia. Di lain pihak, sel yang mengalami stres juga memiliki mekanisme yang sekalipun dalam kondisi sintesis protein normal mengalami hambatan total yang 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. Mereka juga memegang peranan penting dalam sintesis dan transport pada sel normal, mungkin juga dalam pengeluaran protein *abnormal host* (atau juga yang berasal dari virus) dari sel.

Sintesis Hsp ternyata juga dapat dipicu oleh pemaparan terhadap stres lain. Sebaliknya terdapat sejumlah protein yang dapat diinduksi oleh stres fisiko-kimia ini, tetapi tidak oleh panas. Selain itu, Hsp ditemukan terdapat secara konstitutif pada eukariot mulai dari insekta sampai mammalia. 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 dan Jusman, 2002; Albar, 2002).

2.9.1 Penggolongan Hsp

1. Berdasarkan pola sintesisnya, Hsp terbagi menjadi dua yaitu (Rosdiana dan Jusman, 2002) :

- a. Hsp *konstitutif*, selalu ditemukan pada keadaan basal atau tanpa stres, tetapi akan diproduksi lebih banyak selama selama stres.
- b. Hsp *inducible*, hanya ada pada organisme yang mengalami stres.
2. Hsp dibedakan berdasarkan atas perbedaan berat molekulnya.

Tabel 2.2 Penggolongan dan fungsi utama Hsp (Albar, 2002).

Keluarga	Anggota	Fungsi	Keterangan
Hsp-90	Hsp-100, HSP-90, Grp-94	Pemeliharaan protein, misalnya : reseptor steroid dalam bentuk inaktif sampai digantikan oleh agen yang sesuai.	Homolog Hsp-90 pada <i>Drosophila</i> dan ragi dikenal sebagai Hsp-83
Hsp-70	Grp-78 (Hip), Hsp-70, Hsc-70, Hsx-70	Pelipatan dan pembukaan protein, pemasangan kompleks multimerik, misalnya : Bis bertanggung jawab terhadap pelipatan yang tepat dari rantai panjang Ig.	Hsx-70 hanya pada primata
Hsp-60	Hsp-60	Pelipatan dan pembukaan protein, translokasi organel.	Antigen utama kebanyakan bakteri dan parasit yang menginfeksi manusia.
Hsp-27	Hsp-27, Hsp-26, dst.	Belum diketahui	Ukuran dan jumlahnya sangat bervariasi pada berbagai organisme.
Ubiquitin	Ubiquitin	Degradasi protein	Terkonjugasi pada histon H ₂ A pada inti, memungkinkan berperan pada regulasi gen.

Sudah terbukti bahwa banyak dari protein ini berperan dalam menentukan struktur tiga dimensi yang tepat dari berbagai ragam protein. Sebagai contoh, Bip protein (termasuk keluarga Hsp 70) bertugas mengatur lipatan yang tepat dari rantai panjang imunoglobulin dan mungkin juga rantai pendek. Hsp juga mempunyai efek *chaperon* penting yang berkaitan dengan molekul reseptor sampai dengan munculnya molekul efektor yang menggantikan Hsp ini (Albar, 2002).

Penamaannya didasarkan atas berat molekul masing-masing protein. Kelas Hsp tersebut adalah : 100-200, 80-100, 70, 58-65, dan 25-30 kD serta ubiquitin. Hsp 104 diketahui mempunyai peranan dalam menimbulkan efek toleransi terhadap panas pada beberapa organisme. Hsp 104 dan Hsp 70 menunjukkan fungsi yang serupa dalam hal kerjanya sebagai *chaperone* dan keduanya dapat melakukan fungsi secara bergantian serta saling tumpang tindih (Rosdiana dan Jusman, 2002).

Hsp 70 banyak ditemukan dalam nukleus, mitokondria, retikulum endoplasma, dan sitosol eukariot 15. Induksi Hsp 70 sebagian besar terjadi karena berlebihannya jumlah rantai polipeptida yang belum terlipat, dalam keadaan normal terdapat di dalam sel. Kelas Hsp 70 mempunyai tingkat konservasi yang tinggi dalam evolusinya, sehingga sekuens asam amino pada *E. Coli* ditemukan 50 % identik dengan protein manusia 14. Semua anggota dari kelas Hsp 70 mempunyai dua domain yang berbeda yaitu :domain ATP ase yang terletak dekat ujung N-terminal dan bagian C-terminal terdapat domain yang mengikat peptida. Hsp 70 mitokondria dan Hsp 75 terikat pada protein saat protein memasuki matriks dari sitosol. Hsp yang terdapat di sitosol terdiri dari Hsp 73 yang konstitutif dan Hsp 72 yang *inducible*, erat kaitannya dengan sintesis, pelipatan dan sekresi protein. Hsp 72 dan 73 mempunyai struktur dan komponen yang sama.. Pada sel yang normal, diperkirakan Hsp 72 da 73 dapat saling mensubtitusi satu sama lain. Hsp 72 tingkat induksinya sangat tinggi dan

sering dijadikan pertanda adanya respon terhadap stres kardiak, domain ATP-asedomain pengikat peptida (Rosdiana dan Jusman, 2002).

2.9.2 Peranan Hsp Dalam Sintesa Protein

Sintesis protein berlangsung melalui suatu rangkaian proses dimulai dari suatu untaian polipeptida 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 (Rosdiana dan Jusman, 2002).

Proses pelipatan protein untuk membentuk konformasi yang khas memerlukan seperangkat protein untuk mengarahkannya agar proses pelipatan yang terjadi berjalan dengan benar. Pada beberapa proses translokasi protein di dalam sel, protein mungkin di translokasikan dalam keadaan tidak terlipat. Semua protein mempunyai konformasi yang mirip bila 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. 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 dan Jusman, 2002).

2.10 Metabolisme Triglisierida

Perubahan metabolisme lipid dan lipoprotein yang awal dan konsisten adalah peningkatan triglisierida serum, yang ditandai dengan meningkatnya kadar *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). Peningkatan triglisierida ini diinduksi oleh berbagai sitokin yaitu : TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 dan lain-lain. Efek sitokin terhadap metabolisme tampaknya langsung, tidak diperantarai oleh hormon-hormon seperti insulin, kortisol atau katekolamin (Novianti, 2006).

Kadar triglisierida plasma yang meningkat disebabkan karena adanya peningkatan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). Menurut (Novianti, 2006) peningkatan VLDL ini sebagai hasil dari :

1. Peningkatan sintesis asam lemak di hati.

Lipopolisakarida (LPS) dan beberapa sitokin termasuk TNF- α , IL-1, IL-6, *Interferon- α* (IFN- α), *Leukemia Inhibitor Factor* (LIF), *Ciliary Neurotrophic Factor* (CNTF) dan lain-lain secara tepat menginduksi sintesis asam lemak dan sintesis triglisierida di hati pada hewan pengerat. TNF- α secara akut meningkatkan kadar sitrat intraseluler suatu alosterik aktivator *Acetyl CoA Carboxylase* (ACC), IL-1 dan IL-6 meningkatkan sintesis asam lemak hepatic dengan meningkatkan kadar sitrat hepatic. Efek stimulasi TNF atau IL-1 dan IFN- α pada sintesis asam lemak hepatic adalah aditif atau sinergik.

2. Peningkatan lipolisis di jaringan adiposa.

Lipolisis jaringan adiposa juga menyediakan asam lemak untuk meningkatkan sintesis trigliserida hepatic selama infeksi. IL-1 tidak menginduksi lipolisis, efeknya pada kadar trigliserida serum disebabkan karena meningkatnya sintesis asam lemak hati dan sekresi trigliserida. Beberapa sitokin menginduksi lipolisis termasuk TNF, IFN- α dan IFN- γ melalui penurunan dalam mRNA *Hormone Sensitive Lipase* (HSL).

Lipolisis dalam adiposa manusia yang diinduksi oleh TNF, berkaitan dengan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MEK) dan *Extraceluller Signal-Related Kinase* (ERK). Hal ini menyebabkan penurunan *Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase 3B*, suatu enzim yang menghidrolisis cAMP. Peningkatan cAMP intraseluler mengaktifasi *Protein Kinase A* (PKA). PKA memfosforilasi perilipin A dan B yang memodifikasi permukaan lipid sehingga dapat ditembus oleh lipase dan mendukung terjadinya lipolisis. Aktivasi jalur MEK-ERK dan PKA juga memfosforilasi HSL dan meningkatkan aktivitas lipolisisnya.

LPS dan sitokin juga dapat menginduksi lipolisis dengan cara menurunkan ekspresi *Acetyl-CoA Synthetase* (ACS).

3. Penurunan oksidasi asam lemak hepatic

Pada infeksi bakteri terjadi penekanan oksidasi asam lemak melalui penurunan ACS mitokondria oleh LPS, TNF dan IL-1. Penurunan ACS mitokondria mencegah aktivasi asam lemak untuk masuk ke dalam mitokondria. Sebaliknya peningkatan ACS mitokondria meningkatkan reesterifikasi asam lemak untuk sintesis trigliserida. ACS mitokondria merubah asam lemak menjadi *Fatty Acyl-CoA*, yang selanjutnya dimetabolisme oleh mitokondria *Carnitine Palmitoyl Transferase-1* (CPT-1) menjadi *Acylcarnitine*. CPT-II berikutnya memetabolisme *Acylcarnitine* menjadi *Acyl-CoA* yang membiarkan asam lemak untuk masuk ke dalam mitokondria dan mengalami

beta oksidasi. LPS, IL-1 dan TNF meningkatkan kadar *Malonyl CoA* hepatic, suatu inhibitor alosterik dari CPT-1 yang menghambat CPT-1 yang tersisa sehingga menurunkan oksidasi asam lemak.

4. Penurunan *clearance* VLDL

Infeksi dapat meningkatkan kadar trigliserida serum melalui penurunan *clearance* VLDL. TNF tidak menurunkan *clearance* kilomikron atau VLDL di sirkulasi. Adanya suatu mekanisme yang merubah LPL mungkin mempengaruhi kadar trigliserida.

Akumulasi lipoprotein yang kaya akan trigliserida bersifat proaterogenik. VLDL pada individu dengan hipertrigliseridemia bersifat toksik terhadap sel endotel. VLDL tersebut dapat berinteraksi dengan reseptor LDL untuk Apo B-48 pada monosit atau makrofag sehingga meningkatkan lipid uptake dan pembentukan sel busa. VLDL yang disekresi oleh sel hati setelah pemberian LPS, diperkaya *spingolipid*. Pengayaan *spingolipid* dapat menurunkan *clearance* lipoprotein yang kaya akan trigliserida.

2.11 *Malondialdehid* (MDA)

MDA adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. MDA juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentosa dan heksosa. Selain itu, MDA juga merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk samping biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak membran yang akan menyebabkan gangguan fluiditas membran (Widodo, 2003; Winarsi, 2007).

MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan hasil metabolit komponen sel oleh radikal bebas (Halliwell, 1999). Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Selanjutnya antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA (Zakaria, 2000 ; Winarsi, 2007).

MDA dapat bereaksi dengan komponen nukleofilik atau elektrofilik. Aktivitas non-spesifiknya, MDA dapat berikatan dengan berbagai molekul biologis seperti protein, asam nukleat dan aminofosfolipid secara kovalen. MDA dapat menghasilkan polimer dalam berbagai berat molekul dan polaritas. Efek negatif senyawa radikal maupun metabolit elektrofil ini dapat diredam oleh antioksidan. Oleh karena itu, perubahan kadar MDA sangat bergantung pada status antioksidan dalam tubuh seseorang (Winarsi, 2007).

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3**KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN****3.1 Kerangka Konseptual Penelitian**

Paparan oksigen hiperbarik sebesar 2,4 ATA 100% O₂ (tekanan tinggi dan oksigen konsentrasi tinggi) akan menyebabkan peningkatan SOR sebagai akibat respon biologis terhadap adanya stressor pada awal paparan / fase alarm (Thibaut, 1990; Cotran, 1999). Pada fase ini pertahanan tubuh meningkat (Bachrach, 1978). Sel yang mengalami stres akan menghasilkan protein tertentu sebagai upaya sel untuk melindungi diri agar tidak mati, sehingga muncul *Heat Shock Protein (Hsp)* sebagai respon terhadap stimulus yang dapat mengganggu kehidupan sel (Cotran, 1999; Rosdiana dan Jusman, 2002). Beberapa diantara protein ini diketahui dapat memungkinkan pulihnya prosesing RNA dan sintesis protein normal setelah pemaparan, radikal oksigen dan beberapa sitokin, dapat menimbulkan reaksi yang sama (Albar, 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 dan Jusman, 2002; Albar, 2002). Peningkatan jumlah Hsp berkaitan dengan hambatan sintesa protein normal, dimana protein yang terdenaturasi (*malfolded*) dengan bagian hidrofobik terikat pada Hsp dan dengan proses ini menjadi terbuka/lurus. Dengan adanya ATP kompleks Hsp-protein berdisosiasi, memungkinkan timbulnya kesempatan kinetik bagi protein tersebut untuk terlipat kembali menjadi bentuk yang benar (bentuk seperti sebelum *heat shock*) (Albar, 2002).

Heat Shock Protein 70 akan meningkatkan *antitumor immunity*/menurunkan *Tumor Necrosis Factor- α* (Fedoroff *et al.*, 2006). Penurunan TNF- α akan memperbaiki reseptor insulin secara langsung melalui peningkatan fosforilasi dari *tyrosine kinase* dan *insulin receptor substrat -1 (IRS-1)* (Wijaya, 1997). Akibat penurunan TNF- α menyebabkan perbaikan ambilan glukosa yang dirangsang insulin pada jaringan otot dan sel adipose serta meningkatkan translokasi *glucose transporter 4 (Glut 4)*(Merentek, 2006). Sehingga glukosa masuk jaringan, yang akan menyebabkan gula darah turun (Merentek, 2006). Penurunan gula darah sebagai pertanda penurunan radikal bebas.

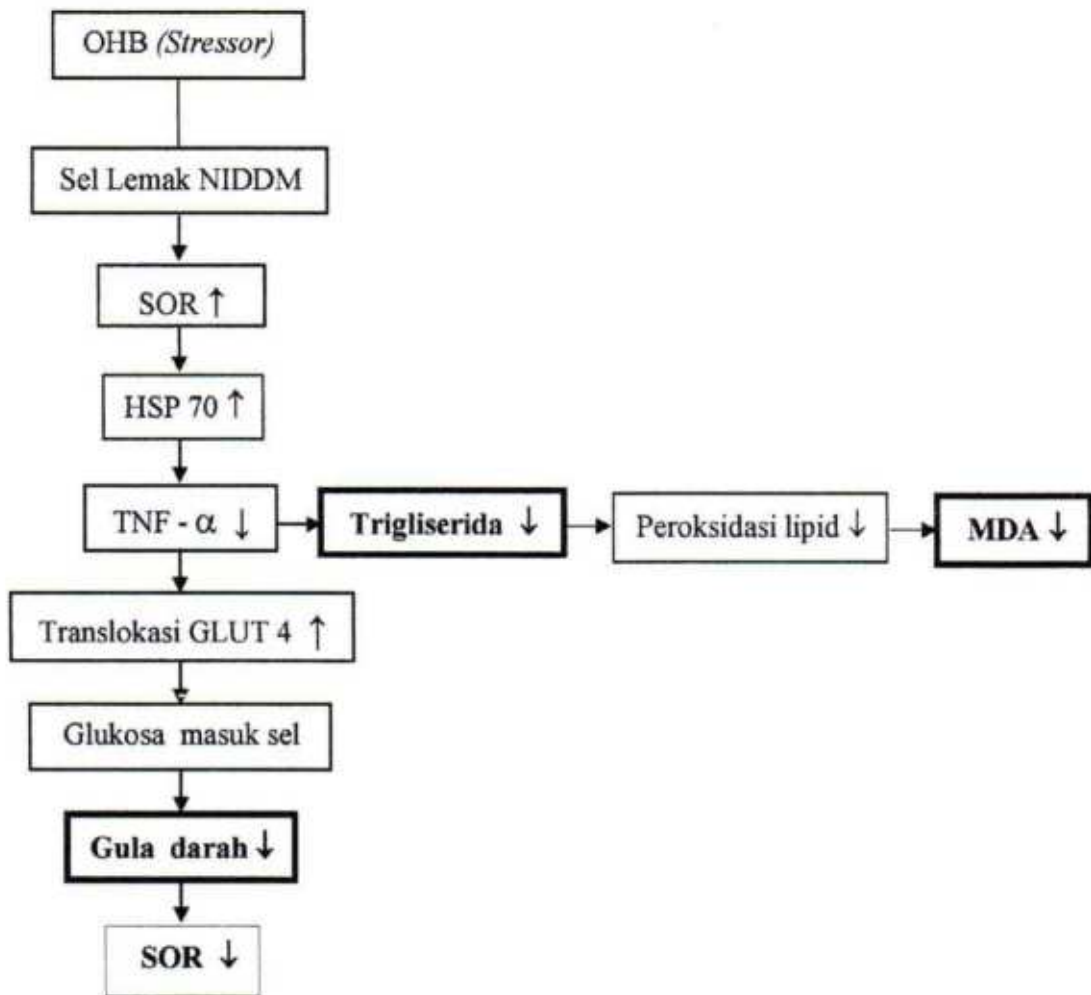
Penurunan kadar trigliserida dipengaruhi oleh berbagai sitokin salah satunya yaitu : TNF- α . (Novianti, 2006). Penurunan kadar trigliserida plasma disebabkan karena adanya penurunan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). Penurunan VLDL ini sebagai hasil dari : penurunan sintesis asam lemak di hati, penurunan lipolisis di jaringan adiposa, peningkatan oksidasi asam lemak hepatic, dan peningkatan *clearence* VLDL (Novianti, 2006).

Hubungan antara resistensi insulin dengan metabolisme trigliserida adalah kenyataan bahwa insulin selain berperan pada stimulasi pengambilan glukosa, juga mempunyai kerja pada *lipoprotein lipase (LPL)* (Wijaya, 1997).

Jadi perbaikan reseptor insulin juga akan terjadi penurunan suplai asam lemak bebas (FFA) ke hati, dimana FFA (*Free Fatty Acid*) merupakan substrat utama untuk sintesis trigliserida dihati, sehingga lebih sedikit terbentuk LDL yang lebih sulit menembus dinding vaskuler dan lebih tahan terhadap oksidasi oleh radikal bebas (Wijaya, 1997). Dimana kerusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel dengan terjadinya rangkaian sebagai berikut :

1. Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran (enzim membran, komponen karbohidrat membran plasma sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor.
2. Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transportasi terganggu.
3. Reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA : *poly unsaturated fatty acid*). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain mengubah fluiditas membran, cross linking dan fungsi membran, dalam keadaan yang lebih ekstrim akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Gitawati,2008). MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan hasil metabolit komponen sel oleh radikal bebas (Halliwell, 1999). Penurunan MDA merupakan suatu pertanda penurunan radikal bebas.

Berdasarkan uraian di atas, dapat disusun suatu kerangka konseptual sebagai berikut, lihat (Gambar 3.1) :



Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual penelitian

Keterangan :

— : parameter yang diukur adalah : MDA, trigliserida, dan gula darah

3.2 Hipotesis Penelitian

Efek OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 dengan dosis terapi 2,4 ATA 100% O₂ 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari dapat menurunkan radikal bebas (MDA), trigliserida, dan gula darah pada penderita diabetes mellitus tipe 2.

BAB 4
METODE PENELITIAN

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

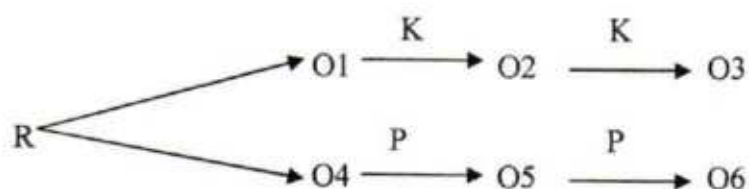
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

4.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental yaitu : adanya kelompok kontrol, kelompok perlakuan, serta ada intervensi atau perlakuan (Zainuddin, 2000)

4.1.2 Rancangan Penelitian

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



Keterangan :

R = Randomisasi

K = Kontrol

P1 = Perlakuan

O1 = *Pretest* kelompok kontrol

O2 = *Midtest* kelompok kontrol

O3 = *Posttest* kelompok kontrol

O4 = *Pretest* kelompok perlakuan

O5 = *Midtest* kelompok perlakuan

O6 = *Posttest* kelompok perlakuan

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien laki-laki poli diabetes mellitus RSAL dr Ramelan Surabaya.

4.2.2 Sampel

Kriteria inklusi sampel adalah :

1. Usia antara 45 – 65 tahun
2. Jenis kelamin laki-laki
3. Diagnosa fisik normal
4. Pemeriksaan foto thorax normal
5. Pemeriksaan THT normal
6. Pemeriksaan EKG normal
7. Tipe NIDDM
8. Pemeriksaan tekanan darah baik ($< 140/90$), sesuai pengendalian DM (Hendromartono, 1999)
9. Kadar HbA1C masih baik (4 – 5,9), sesuai konsensus DM Indonesia 1998
10. Kadar glukosa darah 2 J PP antara 200 – 400 mg/dl
11. Berat badan normal yaitu sesuai berat badan normal dari rumus Broca (Hendromartono, 1999). Berat badan ideal = (tinggi badan – 100) – 10%
Berat badan normal = 90 – 110% berat badan ideal
12. Untuk menghitung berat badan normal (BB) digunakan rumus *Body Mass*

$$\text{Index (BMI)} : \frac{\text{Berat Badan dalam Kg}}{(\text{Tinggi Badan dalam meter})^2}$$

Keterangan :

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

13. Penderita memakai OAD (*Oral Anti Diabetic*) yang sama

14. Penderita tinggal disekitar Surabaya.

15. Sanggup ikut serta dalam penelitian.

Kriteria eksklusi sampel adalah :

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

4.2.3 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan rumus (Higgins dan Klinbaum, 1985) sebagai

berikut :

$$N = \frac{1}{1-f} \left[\frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 Sc^2}{(Xc - Xt)^2} \right]$$

Keterangan :

- N = besar sampel
- $Z\alpha$ = standart deviasi untuk α (kesalahan tipe 1), setelah ditemukan dihitung $Z\alpha$ yang dapat dibaca dari tabel distribusi normal ($Z\alpha = 1,96$)
- $Z\beta$ = standart deviasi untuk β (kesalahan tipe 2), setelah ditemukan dihitung $Z\beta$ yang dapat dibaca dari tabel distribusi normal ($Z\beta = 1,28$)
- X_c = nilai rata-rata kelompok kontrol
- X_t = nilai rata-rata kelompok perlakuan
- S_c = standart deviasi kelompok kontrol
- f = proporsi kegagalan

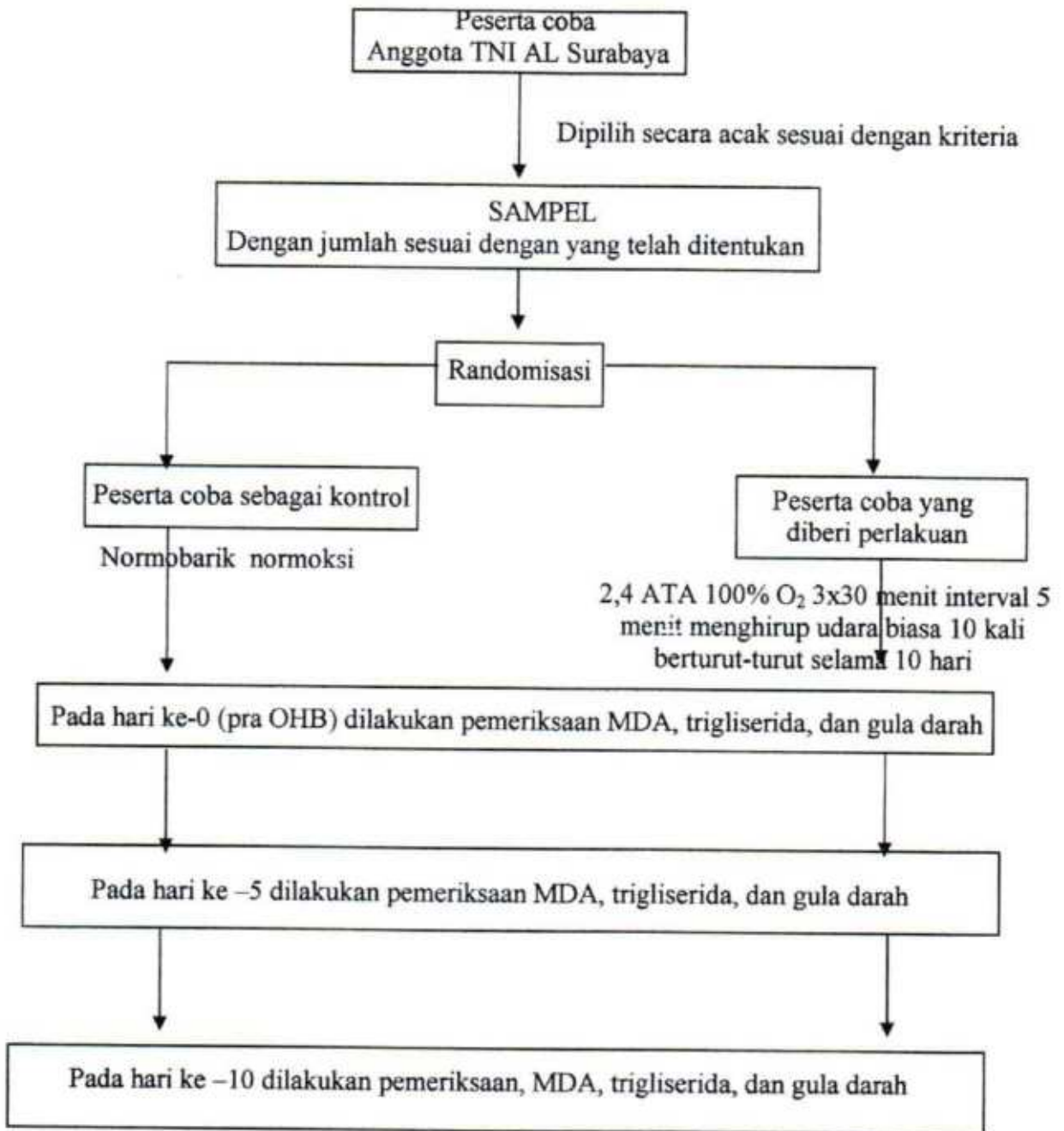
Hasil penelitian pendahuluan (Satria, 2001) didapatkan besarnya sampel sebagai berikut :

$$N = \frac{1}{(1 - 0,05)} \frac{2(1,96 + 1,28)^2 (0,023)^2}{(1,547 - 1,51)^2} = 8,925 \text{ sampel} \quad \text{dibulatkan } 9$$

4.2.4 Teknik Pengambilan Sampel

1. Pada awal penelitian peserta coba dilakukan randomisasi dengan cara diundi, kemudian dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
2. Kelompok kontrol tanpa diberi perlakuan.
3. Kelompok perlakuan dimasukkan ke dalam RUBT (Ruang Udara Bertekanan Tinggi) dengan tekanan 2,4 ATA 100 % O_2 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari.
4. Pada hari ke -0 (pra OHB) kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diambil darahnya kemudian diukur MDA, trigliserida, dan gula darah.

5. Pada hari ke -5 kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diambil darahnya, diukur MDA, trigliserida, dan gula darah kemudian hasilnya dibandingkan dengan hari ke-0 (pra OHB).
6. Pada hari ke -10 kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diambil darahnya, diukur MDA, trigliserida, dan gula darah kemudian hasilnya dibandingkan dengan hari ke-0 (pra OHB). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada bagan teknik pengambilan sampel dibawah ini (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 : Bagan teknik pengambilan sampel

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

1. Variabel Bebas (*independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah 1 seri (10 kali) oksigenasi hiperbarik 2,4 ATA 100% O₂ 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut – turut selama 10 hari.

2. Variabel Tergantung (*dependent*)

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah : MDA, trigliserida, gula darah.

3. Variabel Moderator

Variabel moderator pada penelitian ini adalah: umur, tinggi badan, berat badan, BMI, HbA1c.

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

1. Oksigen hiperbarik adalah pemberian oksigen didalam ruangan udara bertekanan tinggi sebesar 2,4 ATA 100% O₂ 3x30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut – turut selama 10 hari.
2. MDA adalah hasil dekomposisi dari peroksidasi lipid.
3. Trigliserida adalah lemak tidak jenuh rantai ganda yang ditemukan pada penderita diabetes mellitus tipe 2.
4. Umur yang dimaksud adalah umur berdasarkan akte kelahiran atau biodata lain.
5. Berat badan adalah hasil pengukuran berdasarkan rumus Brocca (Hendromartono, 1999). Berat badan ideal = (tinggi badan – 100) – 10%; Berat badan normal = 90 – 110% berat badan ideal, hasil dicatat dalam satuan kilogram.

6. Tinggi badan adalah hasil pengukuran tinggi badan dengan alat antropometer dalam posisi tegak tanpa alas kaki (sikap anatomis), hasil dicatat dalam satuan centimeter (cm).

4.4 Bahan dan Instrumen Penelitian

4.4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk pengukuran MDA (*Malondialdehida*) :

1. TCA (*Thiochloroacetic Acid*) 100%
2. HCl (Asam Klorida) 1 N
3. Na-Thio (*Natrium Thiobarbituric*) 1 %
4. Akuades
5. Sampel darah

Bahan yang digunakan untuk pengukuran glukosa darah :

1. Buffer fosfat pH 7.0
2. Fenol
3. POD
4. GOD Perid
5. ABTS

Bahan yang digunakan untuk pengukuran trigliserida :

1. Serum
2. Plasma heparin atau EDTA

4.4.2 Instrumen Penelitian

Alat untuk pemeriksaan MDA (*Malondialdehida*) :

1. Tabung reaksi
2. Kertas saring Whatman 42

3. *Vortex mixer*
4. *Microsentrifuge*
5. *Eppendorf*
6. *Waterbath*
7. Transpipet dan tip
8. Spektrofotometer
9. *Glass wool*

Alat untuk pemeriksaan glukosa darah yaitu :

1. Tabung reaksi, rak tabung
2. Mikropipet 50 μ l, 100 μ l, 500 μ l, 1000 μ l
3. *Yellow, blue tip*
4. *Eppendorf Ecom-E 6125*

Alat untuk pemeriksaan trigliserida yaitu :

1. Tabung reaksi, rak tabung
2. Mikropipet
3. *Yellow, blue tip*
4. Spektrofotometer, *eppendorf*

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.5.1 Lokasi Penelitian

1. Ruang Udara Bertekanan Tinggi (RUBT) Lakesla.
2. Departemen Penyakit Dalam Poli Diabetes Mellitus RSAL Dr Ramelan Surabaya.
3. Laboratorium RSAL Dr. Ramelan Surabaya.

4. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.5.2 Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian direncanakan bulan Juni sampai dengan Juli 2008.

4.5.3 Prosedur Pengambilan Data

1. Pengukuran MDA (*Malondialdehida*) plasma adalah sebagai berikut :

Konsentrasi MDA plasma ditentukan dengan menggunakan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA) dari Uchiyama dan Mihara (1978). Prinsip dasarnya adalah reaksi pembentukan dari 1 molekul MDA dengan 2 molekul TBA. Sampel dipanaskan dalam suasana asam dan diukur jumlah kromogen yang terbentuk pada panjang gelombang 532 nm. Adapun prosedur pengukuran MDA adalah sebagai berikut :

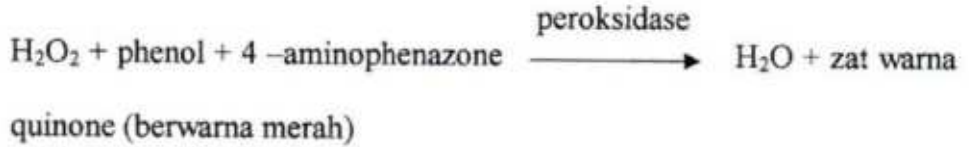
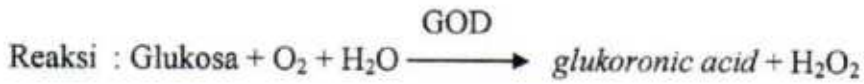
1. Darah disentrifuse 3500 rpm selama 10 menit pada suhu ruang.
2. Ambil serum, kemudian disentrifuse 6000 rpm selama 10 menit pada suhu 4° C.
3. Ambil supernatan sebagai sampel, panaskan 100° C selama 10 menit, kemudian disentrifuse 3000 rpm selama 5 menit pada suhu ruang.
4. Ambil supernatan (endapan jangan sampai terambil).
5. Tambahkan supernatan dengan akuades 3500 ml, kemudian ukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 – 600 nm.

2. Pengukuran glukosa darah

Metode : Enzimatik- kalorimetri

Tujuan : penentuan secara kuantitatif glukosa dalam darah.

Prinsip : glukosa ST kit menggunakan dasar metode Tindler klasik dengan enzim peroksidase, 4-aminophenazone dan phenol (GOD PAP)



Reagen : R1 (BCG reagen)

Cat no	Enzim	Pelarut	Standard	TCA 8 %
013 - 0248 A	5 x 200 ml	1 x 1000 ml	1 x 10 ml	006 - 0746 A
013 - 0248 A	3 x 100 ml	1 x 300 ml	1 x 5 ml	006 - 0746 B

Persiapan reagen :

Larutkan botol isi enzim dengan pelarutnya sesuai dengan kemasan, larutan ini stabil selama 30 hari pada 2 - 8 °C.

Absorban larutan blanko reagen harus sekitar 0,0 - 0,4 AU bila dibaca terhadap aquadest pada λ 505 nm.

Prosedur kerja :

	Blanko	Standard	Test
Aquadest	-	500 μ l	500 μ l
Standart	-	50 μ l	50 μ l
TCA 8 %	500 μ l	500 μ l	500 μ l

Kocok homogen dan putar selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm

Supernatan	-	100	100
Reagensia warna	1000	1000	1000

Biarkan pada suhu 37 °C selama 10 menit atau pada suhu kamar selama 25 menit.

Baca absorban test dan standard terhadap blanko pada λ 505 nm.

Nilai normal :

-glukosa puasa : 70 – 110 mg/dl

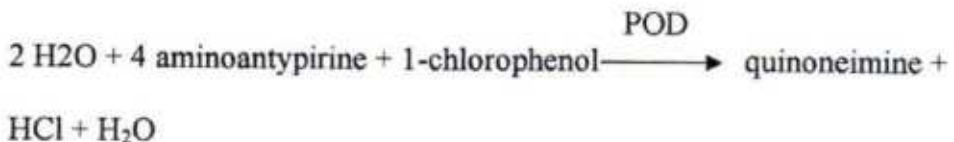
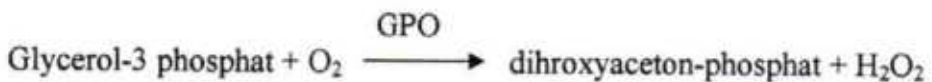
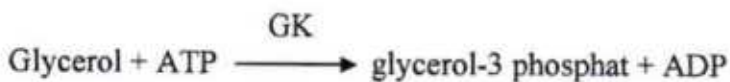
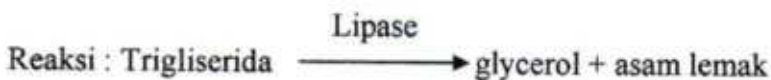
-glukosa 2 Jpp : <140 mg/dl

-glukosa sewaktu : <180 mg/dl

3. Pengukuran trigliserida

Metode : GPO PAP

Prinsip : Trigliserida ditentukan setelah dihidrolisis secara enzimatik dengan lipase. Indikator quinoimine terbentuk dari hydrogen peroksida, 4 aminoantipyrine dan 4-chlorophenol dibawah pengaruh katalisis peroksidase.



Reagen dan standard siap pakai :

	Reagen Blanko	Standard	Sampel
Sampel	-	-	10 $\mu\lambda$
Standard/STD	-	10 $\mu\lambda$	-
Reagen/RGT	1000 $\mu\lambda$	1000 $\mu\lambda$	1000 $\mu\lambda$

Campur, inkubasi selama 10 menit (20-25 °C) atau 5 menit (37°C), ukur absorbansi sampel dan standard terhadap blanko selama 60 menit.

Baca pada λ 546 nm pada spektrofotometer.

Nilai normal : dicurigai diatas 150 mg/dl atau 1,71 mmol/L

meningkat diatas 200 mg/dl atau 2,28 mmol/L.

4.6 Cara Pengolahan dan Analisis Data

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan perubahan pada kelompok yang diterapi OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 dilakukan uji statistik deskriptif, uji normalitas, uji homogenitas, uji beda dengan manova, dilanjutkan analisis diskriminan untuk mengetahui variabel dominan.

BAB 5
HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

BAB 5**HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN****5.1 Data variabel moderator**

Data hasil penelitian selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 7 pada halaman 83, 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	58,54	6,051
Berat Badan	66,85	6,866	63,77	6,866
Tinggi Badan	165,62	5,042	163,08	5,408
BMI	0,2432	0,01727	0,2391	0,2665
HbA1c	7,0692	0,92771	6,7846	1,02131

Tabel 5.2 Hasil uji anova variabel moderator

Variabel Moderator	F. hit	Signifikan
Umur	0,816	0,375
Berat Badan	1,061	0,313
Tinggi Badan	1,532	0,228
BMI	0,222	0,641
HbA1c	0,553	0,464

Secara keseluruhan data variabel moderator homogen antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol karena $P > 0,05$.

5.2 Kondisi pra OHB, OHB hari ke-5, OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida dan gula darah

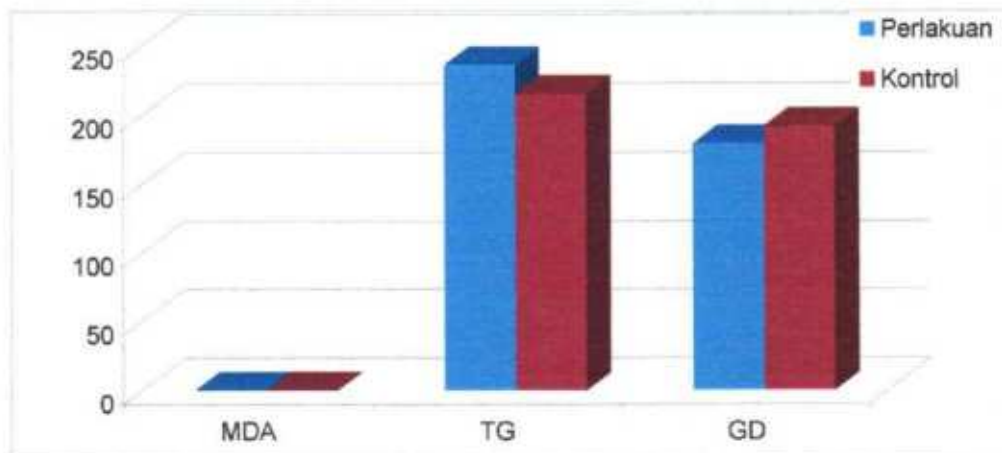
5.2.1 Kondisi pra OHB variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Untuk melihat data pra OHB dengan menggunakan analisis multivariate didapatkan rerata dan simpangan baku seperti dalam (tabel 5.3).

Tabel 5.3 Rerata data pra OHB (awal) variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
MDA_P1	0,14023	0,047891	0,15192	0,084020
Trigliserida (TG)_P1	236,00	102,703	215,62	113,321
Gula darah_P1	179,85	72,433	192,15	84,590

Hasil analisis menggunakan metode Wilks Lambda dimana $F_{hit} = 0,214$ dengan tingkat signifikan $P = 0,886$ ($P > 0,05$), lihat pada (lampiran 8) halaman 86 artinya secara statistik antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol homogen, lihat diagram batang pada (gambar 5.1).



Gambar 5.1 Diagram batang kondisi pra OHB variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

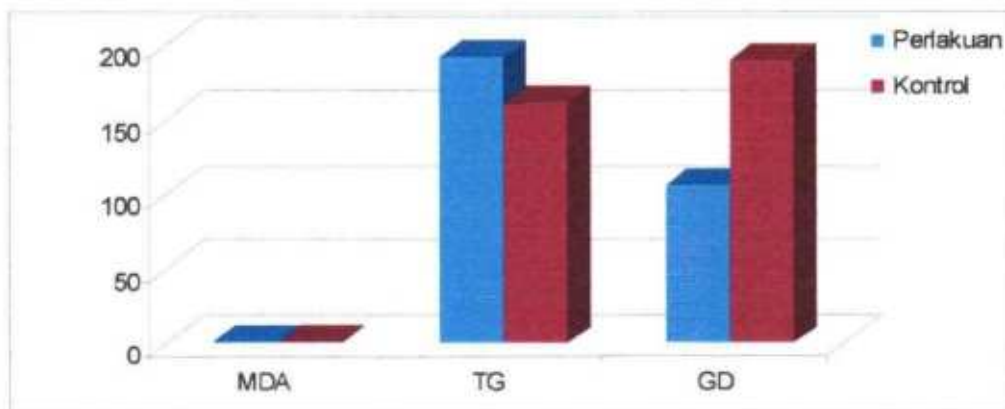
5.2.2 Kondisi OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Untuk melihat kondisi pada OHB hari ke-5 dengan menggunakan analisis multivariate didapatkan rerata dan simpangan baku seperti dalam (tabel 5.4).

Tabel 5.4 Rerata data OHB hari ke -5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
MDA_P2	0,08569	0,042169	0,13915	0,105784
Trigliserida (TG)_P2	191,46	79,582	161,38	86,186
Gula darah_P2	106,23	27,839	188,92	80,023

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana $F_{hit} = 5,914$ dengan tingkat signifikan $P = 0,004$ ($P < 0,05$), lihat (lampiran 9) halaman 89 artinya antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ada perbedaan signifikan, dari ketiga variabel hanya gula darah yang berbeda signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, lihat diagram batang pada (gambar 5.2).



Gambar 5.2 Diagram batang kondisi OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

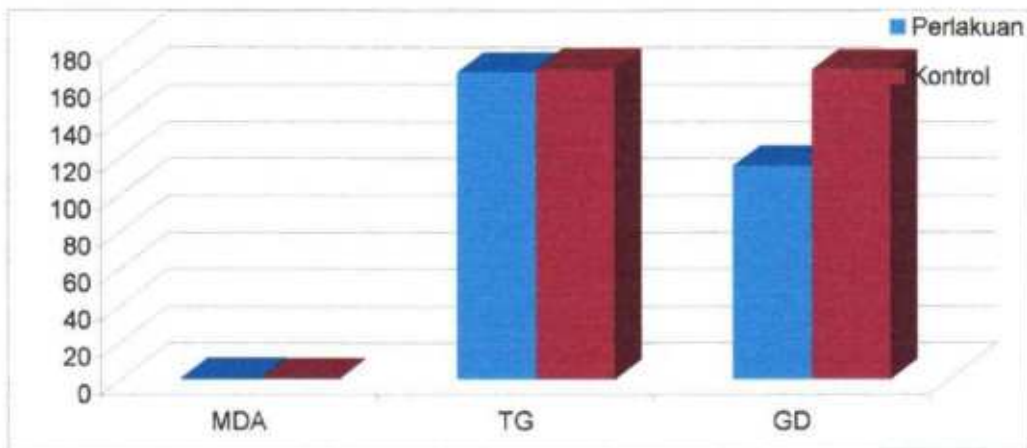
5.2.3 Kondisi OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Untuk melihat kondisi OHB hari ke -10 dengan menggunakan analisis multivariate didapat rerata dan simpangan baku seperti pada (tabel 5.5).

Tabel 5.5 Rerata data OHB hari ke -10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
MDA_P3	0,34538	0,329203	0,19177	0,187512
Trigliserida (TG)_P3	165,77	76,941	167,77	47,417
Gula darah_P3	115,31	44,808	167,23	41,393

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana F hit =3,393 dengan tingkat signifikan $P = 0,036$ ($P < 0,05$), lihat (lampiran 10) halaman 92 artinya antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ada perbedaan signifikan, dari ketiga variabel hanya gula darah yang berbeda signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, lihat diagram batang pada (gambar 5.3).



Gambar 5.3 Diagram batang kondisi OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

5.3 Perubahan (delta) variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

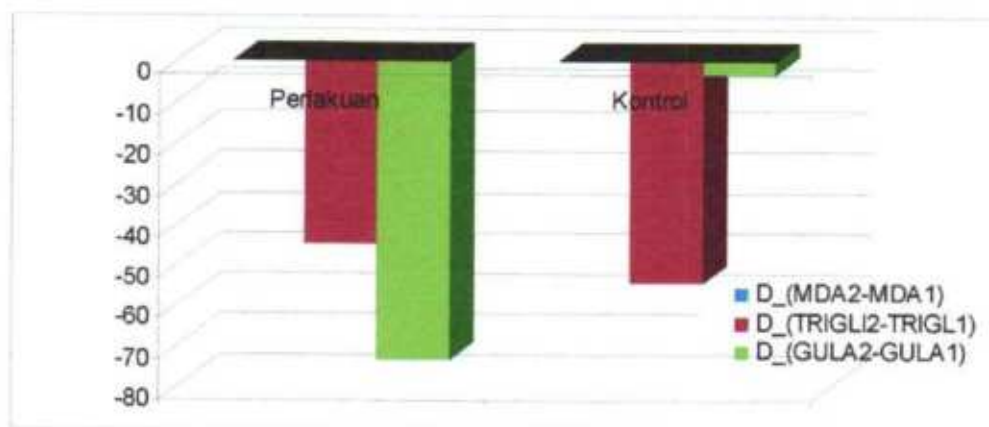
5.3.1 Perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Untuk melihat perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 dilakukan pengurangan antara OHB hari ke-5 dikurangi pra OHB didapat rerata dan simpangan baku, dapat dilihat pada (tabel 5.6).

Tabel 5.6 Rerata data perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
D_MDA2_1	-0,05454	0,054999	-0,01277	0,052092
D_Trigliserida (TG)2_1	-44,538846	51,768097	-54,23077	61,922201
D_Gula darah2_1	-73,6154	57,63179	-3,2308	40,71681

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda didapat $F_{hit} = 4,966$ dengan tingkat signifikan $P = 0,009$ ($P < 0,05$), lihat (lampiran 11) halaman 96 artinya ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, dari ketiga variabel hanya gula darah yang berbeda signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, lihat diagram batang pada (gambar 5.4).



Gambar 5.4 Diagram batang perubahan (delta) antara pra OHB dengan hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

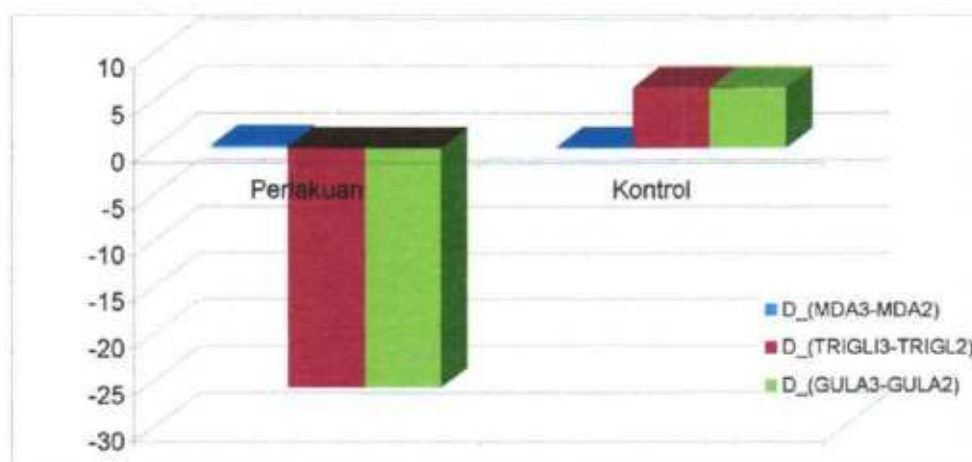
5.3.2 Perubahan antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Untuk melihat perubahan (delta) antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 dilakukan pengurangan antara OHB hari ke-10 dikurangi OHB hari ke-5 didapat rerata dan simpangan baku, dapat dilihat pada (tabel 5.7).

Tabel 5.7 Rerata data perubahan (delta) antara OHB hari ke -5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
D_MDA3_2	0,25969	0,312537	0,05262	0,190301
D_Trigliserida (TG)3_2	-25,69231	55,616821	6,38462	65,519130
D_Gula darah3_2	9,0769	30,05678	-21,6923	67,70326

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda $F_{hit} = 2,55$ dengan tingkat signifikan $P = 0,082$ ($P > 0,05$), lihat (lampiran 12) halaman 98 artinya antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol walaupun ada perubahan tetapi secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan.



Gambar 5.5 Diagram batang perubahan (delta) antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

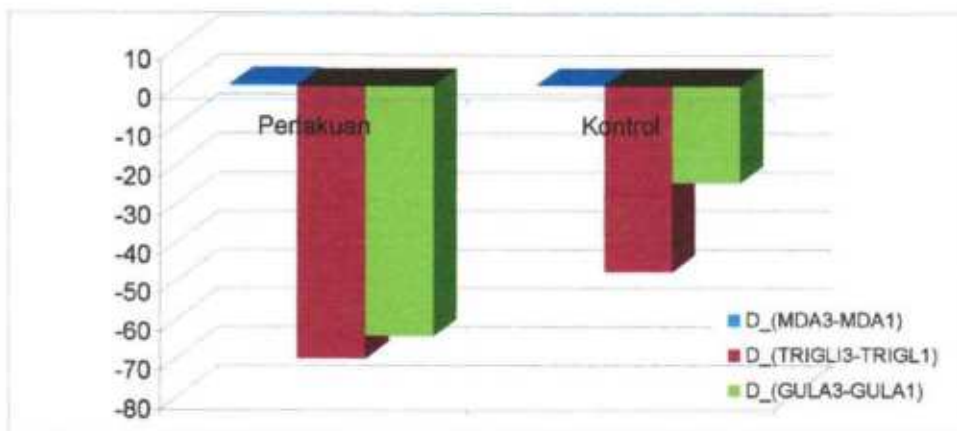
5.3.3 Perubahan antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida dan gula darah

Untuk melihat perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 dilakukan pengurangan antara OHB hari ke-10 dikurangi pra OHB, dapat dilihat pada (tabel 5.8).

Tabel 5.8 Rerata data perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

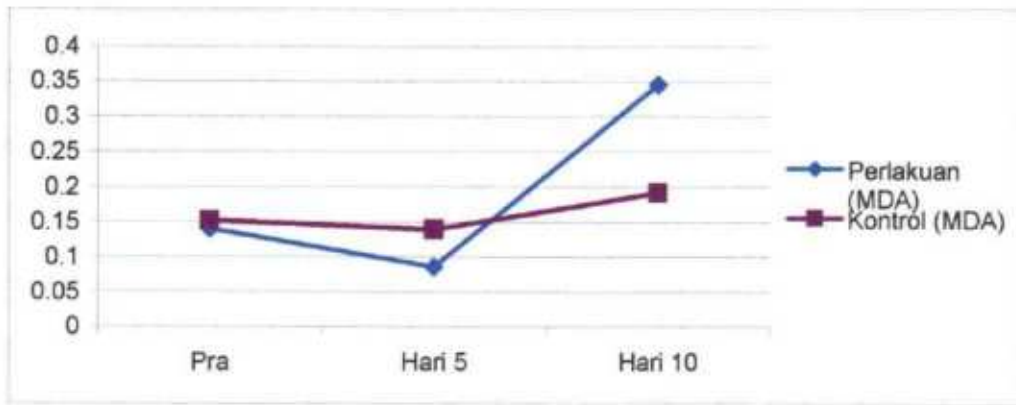
Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
D_MDA3_1	0,9515	0,46055	0,3185	0,189200
D_Trigliserida (TG)3_1	-70,23077	79,96252	-47,4615	93,013302
D_Gula darah3_1	79,96252	-64,5385	-24,9231	79,862286

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana $F_{hit} = 1,52$ dengan tingkat signifikan $P = 0,237$ ($P > 0,05$), lihat (lampiran 13) halaman 101 artinya tidak ada perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, walaupun ada perubahan tetapi secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan.

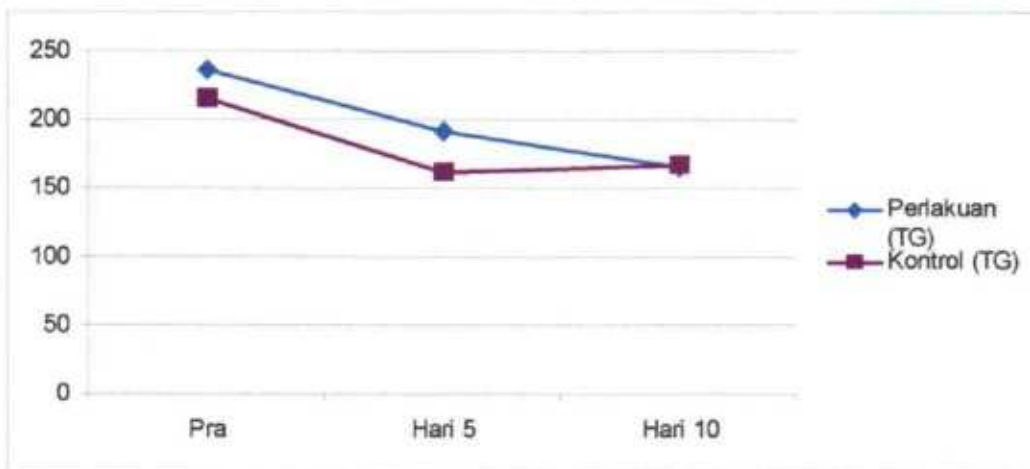


Gambar 5.6 Diagram batang perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

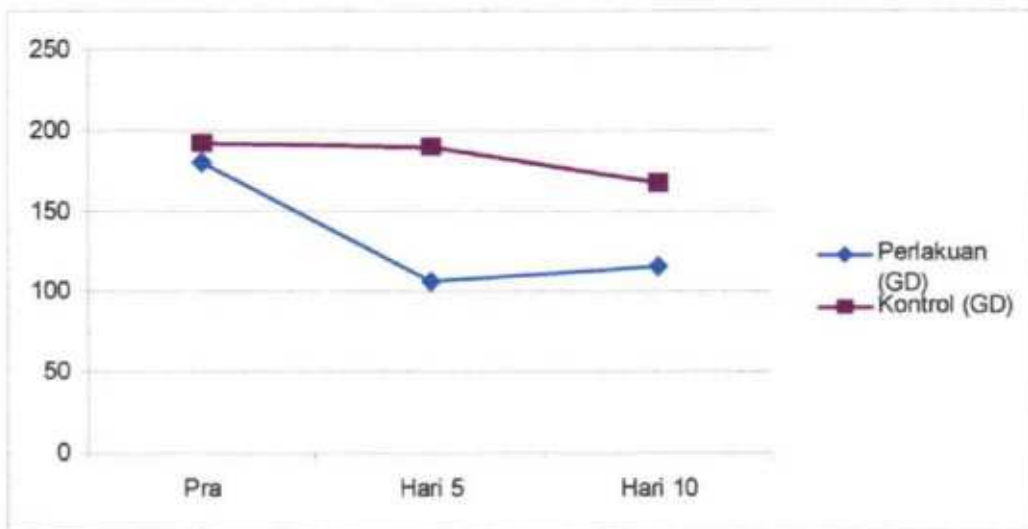
Secara keseluruhan kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah dapat dilihat pada (gambar 5.7; gambar 5.8; gambar 5.9).



Gambar 5.7 Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA



Gambar 5.8 Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel trigliserida



Gambar 5.9 Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel gula darah

Hasil analisis ke-3 kondisi perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5, OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10, dan pra OHB dengan OHB hari ke-10 yang dapat dilanjutkan untuk dianalisis dengan pola diskriminan adalah kondisi perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5.

5.3 Analisis diskriminan variabel MDA, dan gula darah

Data kondisi perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 didapat rerata dan simpangan baku dapat dilihat pada tabel 5.6. Berdasarkan hasil analisis diskriminan didapatkan 2 variabel yang dapat membedakan yaitu variabel MDA dan gula darah, lihat gambar 5.4 dan didapat model regresi linier (Fisher linier) (tabel 5.9).

Tabel 5.9 Tabel Fisher linier diskriminan

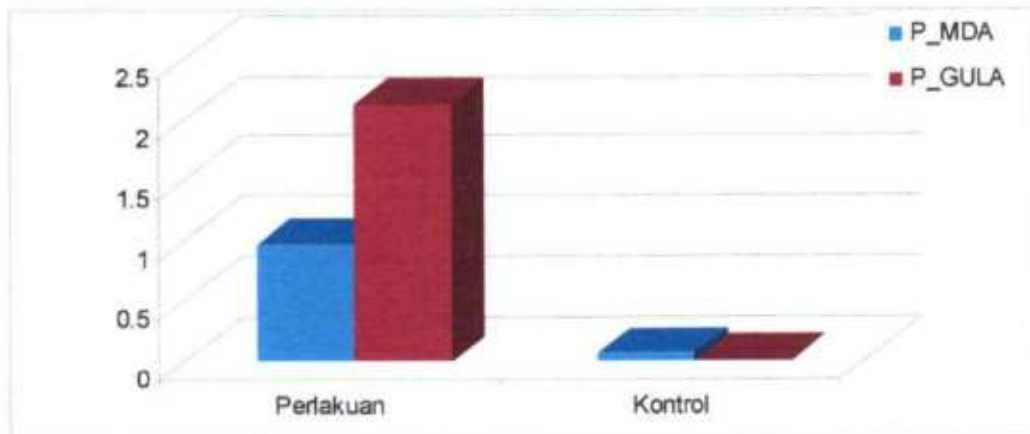
Variabel	Kelompok	
	Perlakuan	Kontrol
D_(MDA2 – MDA1)	-17,712	-4,402
D_(Gula2 – Gula 1)	-0,029	-0,001

Untuk mendapatkan kontribusi setiap variabel dilakukan perkalian Fisher linier dan data aslinya, lihat (tabel 5.10).

Tabel 5.10 Pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, dan gula darah

Variabel	Perlakuan		Kontrol	
	Rerata	S. Baku	Rerata	S. Baku
MDA P 2_1	0,9660	0,97415	0,0562	0,22931
Gula darah P 2_1	2,1348	1,67132	0,0032	0,0407

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana $F_{hit} = 18,367$ dengan tingkat signifikan $P=0,00$ ($P<0,05$), lihat (lampiran 14) halaman 104 artinya MDA dan gula darah antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 ada perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, lihat (gambar 5.10).



Gambar 5.10 Diagram batang pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA dan gula darah

**BAB 6
PEMBAHASAN**

BAB 6

PEMBAHASAN

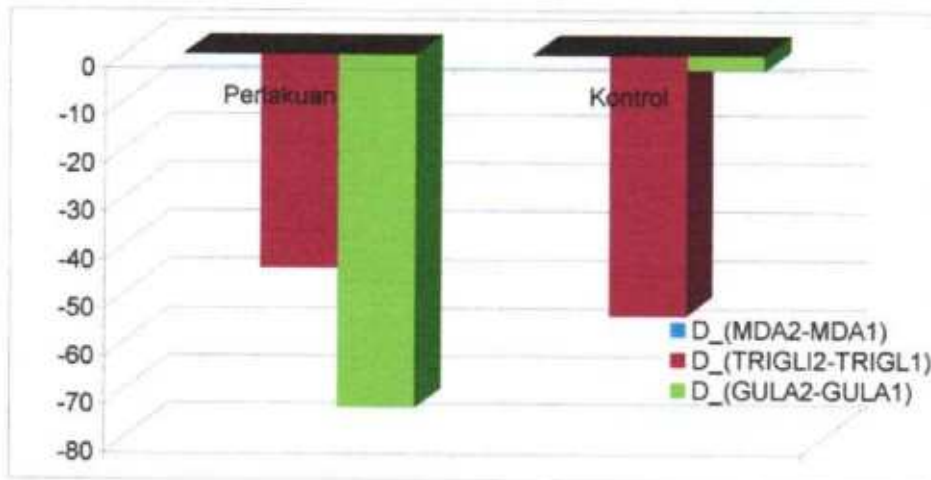
Hasil analisis ke-3 kondisi perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5, OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10, dan pra OHB dengan OHB hari ke-10 yang dapat dilanjutkan untuk dianalisis dengan pola diskriminan adalah kondisi perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5.

Untuk melihat perubahan (delta) antara pra OHB dengan hari ke-5 dilakukan pengurangan antara hari ke-5 dikurangi pra OHB didapat rerata dan simpangan baku sebagai berikut : pada kelompok perlakuan D_MDA2_1 rerata = -0,05454; simpangan baku = 0,054999, D_Trigliserida (TG)2_1 rerata = -44,538846; simpangan baku = 51,768097, D_Gula darah2_1 rerata = -73,6154; simpangan baku = 57,63179. Sedangkan pada kelompok kontrol D_MDA2_1 rerata = -0,01277; simpangan baku = 0,052092, D_Trigliserida (TG)2_1 rerata = -54,23077, simpangan baku = 61,922201, D_Gula darah2_1 rerata = -3,2308; simpangan baku = 40,71681.

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda didapat F hit = 4,966 dengan tingkat signifikan $P = 0,009$ ($P < 0,05$), lihat (lampiran 11) halaman 96 artinya ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, lihat diagram batang pada (gambar 5.4).

Untuk mengetahui variabel mana yang paling berpengaruh dilakukan dengan menggunakan pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5. Pola diskriminan didapat rerata dan simpangan baku sebagai berikut : pada kelompok perlakuan P_MDA rerata = 0,9660; simpangan baku = 0,97415, P_gula darah rerata = 2,1348; simpangan baku = 1,67132. Sedangkan pada kelompok kontrol rerata

P_MDA rerata = 0,0562; simpangan baku = 0,22931, P_gula darah rerata = 0,0032; simpangan baku = 0,0407, lihat (lampiran 14).

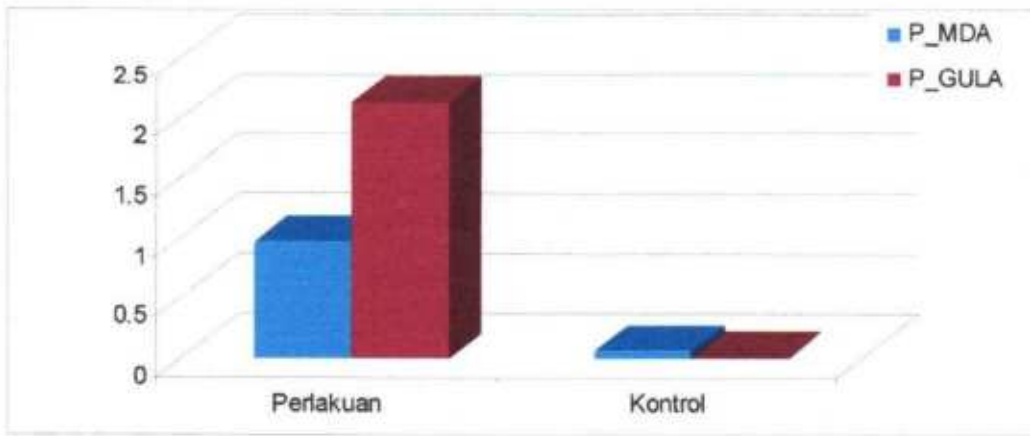


Gambar 5.4 Diagram batang perubahan (delta) variabel MDA, trigliserida, dan gula darah pada pra OHB dengan OHB hari ke-5

Berdasarkan hasil analisis diskriminan didapatkan 2 variabel yang dapat membedakan yaitu variabel MDA dan gula darah, lihat gambar 5.4 dan didapat model regresi linier (Fisher linier) yaitu : pada kelompok perlakuan perubahan (delta) variabel MDA $-17,712$, gula darah $-0,029$. Sedangkan pada kelompok kontrol perubahan (delta) variabel MDA $-4,402$, gula darah $-0,001$, lihat (lampiran 14) halaman 104.

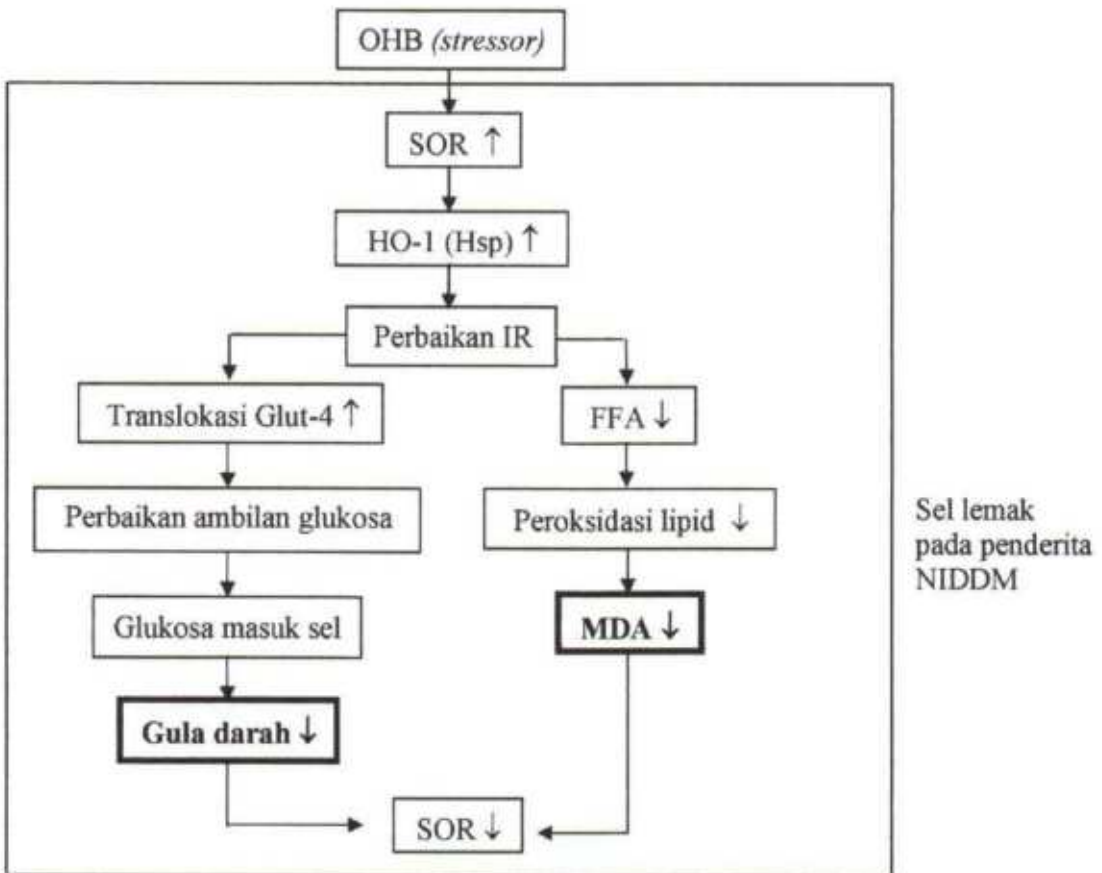
Untuk mendapatkan pola kontribusi setiap variabel dilakukan perkalian Fisher linier dan data aslinya (lihat tabel 5.10).

Hasil analisis dengan menggunakan metode Wilks Lambda dimana $F_{hit} = 18,367$ dengan tingkat signifikan $P=0,00$ ($P>0,05$), artinya MDA dan gula darah antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 ada perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, lihat diagram batang pada (gambar 5.7).



Gambar 5.7 Diagram batang pola diskriminan variabel MDA dan gula darah pada pra OHB dengan OHB hari ke-5

Setelah diberi perlakuan ternyata variabel MDA dan gula darah mempunyai kontribusi yang positif terhadap terhadap efek OHB dapat dilihat pada diagram alur (gambar 5.11).



Gambar 5.11 Diagram alur penurunan MDA dan gula darah terhadap efek OHB

OHB pada tekanan 2,4 ATA 100 % O₂ merupakan suatu stressor pada pemberian tekanan tinggi dan oksigen konsentrasi tinggi. Paparan OHB pada jaringan adiposa penderita diabetes mellitus tipe 2 pada kondisi hiperoksia akan menimbulkan stres oksidatif. Hiperoksia yang kuat akan menginduksi *heme oxygenase-1* (HO-1) sebagai *marker* atau sitoprotektif terhadap sel yang mengalami stres (Droge, 2002). Sel yang mengalami stres akan menghasilkan protein tertentu yang disebut stres protein. Protein ini dihasilkan sebagai upaya sel untuk melindungi diri agar tidak mati, sebagai respon terhadap stimulus yang dapat mengganggu kehidupan sel (Cotran, 1999; Rosdiana dan Jusman, 2002). Kerentanan proses terhadap stres oksidatif mungkin merupakan cerminan dari kepekaan enzim atau partikel subseluler terhadap denaturasi (Albar, 2002). Bila dilihat dari efek proteksi HO-1 terhadap sel yang mengalami stres maka dapat disimpulkan bahwa HO-1 berfungsi seperti *hsp* (*heat shock protein*), dimana *hsp* pada vertebrata berhubungan dengan protein seluler seperti protein yang mentransformasi retrovirus, *tyrosin kinase*, reseptor hormon steroid, aktin, dan tubulin 15 (Rosdiana dan Jusman, 2002). Aktivasi reseptor oleh ligan mengawali sinyal transduksi, dimana sinyal transduksi meregulasi sinyal insulin melalui aktivasi ekspresi gen yang mengatur transport glukosa (Qi dan Pekala, 2000).

Jalur sinyal insulin diawali dengan pengikatan insulin oleh reseptor insulin (IR) pada jaringan adiposa (Qi dan Pekala, 2002; Davis, 2007). Ikatan tersebut mengaktifkan reseptor endogen yaitu *tyrosin kinase* dengan peningkatan fosforilasi *insulin receptor substrat-1* (*IRS-1*) melalui perbaikan sinyal transduksi (Wijaya, 1997; Qi dan Pekala, 2000). Perbaikan sinyal transduksi akan menyebabkan peningkatan translokasi *glucose transporter-4* (*Glut-4*) dalam jaringan adiposa, peningkatan proses enzimatik dan transport ion kalsium yang mengatur proses

metabolisme tubuh, *uptake* serta *release* proses fisiologis yang akan menstimuli pengambilan glukosa (Wijaya, 1997; Widodo, 2003; Merentek, 2006). Selanjutnya menyebabkan terbukanya mega kanal sehingga glukosa masuk jaringan, yang menyebabkan gula darah turun (Widodo, 2003).

Hubungan antara resistensi insulin dengan metabolisme trigliserida –VLDL adalah kenyataan bahwa insulin selain berperan pada stimulasi pengambilan glukosa, juga mempunyai kerja pada *lipoprotein lipase (LPL)* (Wijaya, 1997). Perbaikan reseptor insulin akan menurunkan suplai asam lemak bebas (FFA) ke hati, dimana FFA (*Free Fatty Acid*) merupakan substrat utama untuk sintesis trigliserida dihati, sehingga lebih sedikit terbentuk LDL yang sulit menembus dinding vaskuler dan lebih tahan terhadap oksidasi oleh radikal bebas (Wijaya, 1997).

Penurunan spesies oksigen reaktif (SOR) akan memperbaiki membran sel dengan terjadinya rangkaian sebagai berikut :

1. Tidak terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran (enzim membran), komponen karbohidrat membran plasma sehingga terjadi perbaikan fungsi reseptor.
2. Tidak terjadi oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan peningkatan transport ion.
3. Tidak terjadi reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA : *poly unsaturated fatty acid*). Penurunan peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap perbaikan membran sel, antara lain memperbaiki fluiditas membran dan fungsi membran, sehingga tidak akan menyebabkan apoptosis atau kematian sel (Gitawati,2008). Hasil peroksidasi lipid yaitu : MDA (*malondialdehid*). MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan hasil metabolit komponen sel oleh radikal bebas

(Halliwell, 1999; Qi dan Pekala, 2000). Penurunan MDA dan gula darah merupakan suatu pertanda penurunan SOR (Spesies Oksigen Reaktif).

BAB 7
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil pembahasan dapat diambil suatu kesimpulan : Efek terapi OHB hari ke 5 dengan dosis 2,4 ATA 100 % O₂ 3 x 30 menit interval 5 menit menghirup udara biasa 10 kali berturut-turut selama 10 hari menurunkan MDA dan gula darah.

7.2 Saran

1. Perlu diadakan penelitian serupa dengan jumlah sampel yang lebih banyak sehingga didapatkan hasil yang lebih akurat.
2. Perlu diadakan pengukuran variabel radikal bebas yang lain sehingga didapatkan bukti empiris tentang penurunan radikal bebas pada penderita diabetes mellitus tipe 2 sesudah mendapat terapi OHB untuk kepentingan klinis.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Albar, Z.H. 2002. Heat Shock Protein. Artikel. Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi, Jakarta.
- Amin, M. 1996. Penyakit Paru Obstruktif Menahun : Polusi Udara, Rokok dan Alfa-1 Antitripsin, Airlangga University Press.
- Anonim, 2007. Gula Darah. Artikel : Freeagee <http://Blogspot.com>. Friday, March 23.
- Avongsa, M. 2002. Pengaruh Oksigen Hiperbarik Terhadap Kadar Interleukin -4 dan Immunoglobulin E Serum Penderita Rhinitis Alergika. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Bachrach, AJ and Ergstrom, GH. 1978. The Nature of Stress. Stress and Performance in Diving 1st Eds Best Publishing Company. California pp: 1-3.
- Basset, BE., and Bennet, PB., 1997. Introduction of The Physical and Physiological Base of Hiperbaric Oxygen Therapi. Undersea Medical Society. Betesda pp : 11-24.
- Cotran RS, Kumar V, Collins T. 1999. Robbins Pathologic Basis of Disease. Six Edition, Philadelphia : WB Saunders Company, pp 1-30.
- Davis, S.N. 2007. Insulin, Oral Hypoglycemic Agents and The Pharmacology of The Endocrine Pancreas. Basic and Clinical Endocrinology. University of California, San Fransisco.
- Droge, W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. Division of Immunochemistry, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, Germany. *Physiol Rev.* 82: 47-95, 2002; 10.1152/physrev.00018.2001.p. 54-55.
- Efuni, S.N. et al, 1984. The Use of Kinetic Indices of Peroxidation in Plasma to Evaluate Oxygen Effect in Humans, Proceeding of The Eight International Congress on Hyperbaric Medicine, Long Beach, California (Aug) : 8-12.
- Fedoroff, N. 2006. Redox Regulatory Mechanism In Cellular Stress Respones. Invited Riview. Huck Institutes of The Life Science and Biology Departement, Penn State University Park, PA 16803, USA.
- Foster, DW., 1998. Harrison's Principles of Internal Medicine. 14 th edition, New York: Mc Graw-Hill, pp:2060-2070.
- Foster DW, and Ungar, H.R., 2006. Diabetes Mellitus. Williams Text Book of Endocrinology, 9th edition, USA : WB. Saunders Co., p 1014-1015.

- Girard, J., 1995. NIDDM and Glucose Transports in Cells. France: Research Centre for Molecular Endocrinology and Development CNRS Meudon, p: 1-18.
- Gitawati, R. 2008. Radikal Bebas-Sifat dan peran Dalam Menimbulkan Kerusakan/ Kematian Sel. Artikel. Pusat penelitian dan pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Guritno, M., 1997. Prosedur Pengobatan Oksigen Hiperbarik. Lembaga Kesehatan Kelautan. Surabaya.
- Halliwell, B., Acshbach, R., Loliger, J., Aruoma, OI., 1995. The Characterization of Antioxidant, *Fd Chem Toxic*, vol 33 (7) : 601-617.
- 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, JE and Klinbaum, 1985. *Introduction to Randomized Clinical Trials*. California : Family Health International Research, p: 27-33.
- Jain, KK., 1996. Hyperbaric Oxygenation in Geriatric, *Texbook of Hyperbaric Medicine 2 nd Revised Edition*, Hogrefe and Hubber Publisher Inc., 432-445.
- Mahdi, H., Sasongko., Siswanto., Hinarya, D., Soepriyoto.,dkk., 1991. *Ilmu Kesehatan Bawah Air dan Hiperbarik*. Lembaga Kesehatan Keangkatan Lautan (LAKESLA), Surabaya. Pp : 123.
- Marks et al., 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.
- Mudjiono, T., 1999. Efek Oksigen Bertekanan Tinggi Terhadap Kadar Insulin Darah dan Kadar Glukosa Darah. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Murray, R.G dan Hackney, 2003. *Endocrine Responses to Exercise and Training*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
- Niwa, Y., 1997. SOD Yang Menakjubkan Menumpas Oksigen Radikal, Radikal Bebas Mengundang Maut, *Personal Care Co., Ltd.*, : 30-39.

- Novianti, T. 2006. Peran Infeksi *Helicobacter pylori* Dalam Aterogenesis. Artikel Forum Diagnosticum, Prodia Diagnostics Educational Services. Laboratorium Prodia.
- Oriani G, Marroni A, Wattel F, 1996. Handbook on Hyperbaric Medicine. Berlin : Springer, p 1-25.
- Qi, C dan Pekala, PH. 2000. Tumor Necrosis Factor- α Induced Insulin Resistance in Adipocytes. Minireview. Department of Biochemistry, School of Medicine, East Carolina University, Greenville, North Carolina 27858.
- Rosdiana, N dan Jusman, S.W.A. 2002. Heat Shock protein dan Efek Proteksinya Terhadap Miokardium. Artikel. Bagian Biokimia fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Satria, Y.Y, 2001. Pengaruh Oksigen Hiperbarik Terhadap Aktifitas Radikal Bebas Darah Pra Usia Lanjut. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Sauriasari R, 2006. Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas. Artikel Iptek Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan.
- Shen, HM., *et al*, 2001. Reactive Oxygen Species and Caspase Activation Mediated Silica Induced Apoptosis in Alveolar Macrophages. AJP-Lung Cellular and Molecular Phys, Vol. 280, Issue 1, Jan :L 10-17.
- Sudoyo, H., 2003. Diabetes, Garis Tangan Tetapi Bisa Dihindari. Warta Kesehatan, Kompas Cyber Media. Kamis, 20 Februari 2003.
- Suryohudoyo P, 1995. Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas. Simposium Dampak Negatif Radikal Bebas pada Organ Tubuh dan Manfaat Antioksidan , Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, p 1-7
- Thanickal, VJ and Fanburg, BL., 2000. Reactive Oxygen Species in Cell Signaling. Am. J Phys- Lung Cellular and Molecular Phys., Vol 279, Issue6, Dec.
- 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. Proceeding of International Joint Meeting on Hyperbaric and Underwater Medicine. Instituto Ortopedico Galeazzi Milano, Italy, 189-190.
- Tjokroprawiro, A., 1993. Diabetes Mellitus : Perkembangan Mutakhir (DM-Tipe X – LADA-DM Tipe II/2-Regulasi Cepat-TKOI-GIGULOHIPS). Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan VIII Surabaya, hal: 1.
- Walujani, MA. 2003. Diabetes Garis Tangan Tetapi Bisa Dihindari. Kompas Cyber Media.

- Widodo, MA., 2003. Calcium dan Generasi Spesies Oksigen Reaktif Pada Fungsi Mitokondria, Basic Molecular Biology Course on Mitochondrial Medicine. Buku Kumpulan Makalah, Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang, Pp :15-31.
- Wijaya, A. 1997. Pemeriksaan Laboratorium Untuk Diabetes Mellitus. Naskah Lengkap Surabaya Diabetes Update-III, hal : 130.
- Wijayanto, I. 2000. Efek Oksigen Bertekanan Tinggi Terhadap Penurunan Kadar HbA1c dan Kadar Glukosa Darah. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Wilhelm, J., 1990. Metabolic Aspects of Membrane Lipid Peroxidation. Praha Univerzita Karlova, pp: 7-38.
- 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. :1999.
- Yunia, I., 2007. Mau Tahu Lebih Jauh Tentang Diabetes. Promosi Kesehatan Online. <http://www.promosi.kesehatan.com/artikel.php?mn=5&yr=2007&nid=306>.
- 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 Malondialdehid dan Vitamin E Plasma pada Mahasiswa Pesantren Ulil Albab Kedung Badak, Bogor. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, 11(1) : 36

LAMPIRAN

Lampiran 1 :

ETHICAL CLEARANCE

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

“ EFEK OKSIGENASI HIPERBARIK TERHADAP PENURUNAN
RADIKAL BEBAS PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2”

yang akan dilaksanakan oleh :


N a m a : Suprijanto, S.Si
Status : Mahasiswa Pascasarjana Universitas Airlangga
NIM : 090610098/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


dr. Hadi Soesilo, Sp.M
Kolonel Laut (K) NRP. 8640/P

Lampiran 2 :

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 PENURUNAN RADIKAL BEBAS 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

Yang menyetujui

Penanggung Jawab Penelitian

Peserta Uji Klinik

(Supriyanto, S.Si)

(.....)

Lampiran 3 : Data variabel moderator kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

**DATA PENELITIAN VARIABEL MODERATOR
KELOMPOK PERLAKUAN/OHB**

No.	Nama	Umur	Berat Badan (kg)	Tinggi Badan (cm)	BMI	HbA1c Pra OHB
1	2	3	6	7	9	14
1	H.J	59	62	163	23,3	7,5 %
2	M S	46	58	165	21,3	7,1 %
3	Sm	63	60	165	22,0	7,5 %
4	Wo	60	65	163	24,5	5,2 %
5	Sd	59	64	157	25,6	6,3 %
6	A K	65	88	173	29,4	7,7 %
7	Bdw	64	60	175	19,6	6,2 %
8	Mdji	61	53	159	21,0	5,9 %
9	Tlo	64	62	159	24,5	5,6 %
10	Sdj	62	63	161	24,3	6,4 %
11	A H	48	70	160	27,3	8,9 %
12	Sko	61	60	160	23,0	7,5 %
13	Shd	49	64	160	25,0	6,4 %

**DATA PENELITIAN VARIABEL MODERATOR
PADA KELOMPOK KONTROL/NON OHB**

No.	Nama	Umur	Berat Badan (kg)	Tinggi Badan (cm)	BMI	HbA1c Pra OHB
1	2	3	6	7	9	14
1	Sto	57	56	156	23,0	7,4 %
2	Pjn	58	67	166	24,3	6,6 %
3	Pto	52	81	172	27,3	8,1 %
4	Sr	55	60	167	21,5	6,9 %
5	Kb	57	75	173	25,1	9,5 %
6	St	61	66	164	24,5	6,6 %
7	E.K	61	69	159	27,3	5,5 %
8	Sgt	64	69	170	23,9	6,8 %
9	S.A	65	63	163	23,7	6,8 %
10	S.S	46	70	167	25,1	7,0 %
11	D.J	46	68	170	23,5	6,9 %
12	E.Y	43	68	165	25,0	6,7 %
13	M.M	64	57	161	22,0	7,1 %

Lampiran 4 : Data variabel tergantung MDA plasma kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

**DATA PENELITIAN VARIABEL TERGANTUNG DENGAN PARAMETER
MDA PLASMA PADA KELOMPOK PERLAKUAN/OHB**

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	H.J	0,153	0,083	0,124
2	M S	0,191	0,086	0,058
3	Sm	0,145	0,073	0,078
4	Wo	0,142	0,058	0,067
5	Sd	0,089	0,043	0,119
6	A K	0,128	0,057	0,750
7	Bdw	0,142	0,089	0,630
8	Mdji	0,138	0,207	0,770
9	Tlo	0,101	0,060	0,690
10	Sdj	0,115	0,120	0,860
11	A H	0,110	0,073	0,108
12	Sko	0,098	0,060	0,130
13	Shd	0,271	0,105	0,106

**DATA PENELITIAN VARIABEL TERGANTUNG DENGAN PARAMETER
MDA PLASMA PADA KELOMPOK KONTROL/NON OHB**

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	Sto	0,059	0,094	0,211
2	Pjn	0,157	0,088	0,128
3	Pto	0,117	0,125	0,750
4	Sr	0,135	0,162	0,102
5	Kb	0,150	0,112	0,095
6	St	0,115	0,071	0,158
7	E.K	0,141	0,206	0,153
8	Sgt	0,191	0,265	0,074
9	S.A	0,133	0,069	0,070
10	S.S	0,104	0,064	0,076
11	D.J	0,110	0,051	0,135
12	E.Y	0,152	0,078	0,152
13	M.M	0,411	0,424	0,389

Lampiran 5 : Data variabel tergantung trigliserida kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

DATA PENELITIAN VARIABEL TERGANTUNG DENGAN PARAMETER TRIGLISERIDA PADA KELOMPOK PERLAKUAN/OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	H.J	244	158	157
2	M S	375	269	194
3	Sm	278	256	179
4	Wo	142	111	100
5	Sd	126	81	79
6	A K	341	247	132
7	Bdw	172	182	164
8	Mdji	358	241	337
9	Tlo	219	142	114
10	Sdj	142	145	132
11	A H	379	316	215
12	Sko	80	72	73
13	Shd	212	269	279

DATA PENELITIAN VARIABEL TERGANTUNG DENGAN PARAMETER TRIGLISERIDA PADA KELOMPOK KONTROL/NON OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	Sto	163	208	192
2	Pjn	160	126	158
3	Pto	186	125	113
4	Sr	261	238	209
5	Kb	523	393	245
6	St	179	83	75
7	E.K	383	206	204
8	Sgt	181	99	147
9	S.A	145	113	125
10	S.S	148	148	164
11	D.J	144	175	145
12	E.Y	150	76	185
13	M.M	180	108	219

Lampiran 6 : Data variabel tergantung gula darah kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

DATA PENELITIAN VARIABEL TERGANTUNG DENGAN PARAMETER GULA DARAH PADA KELOMPOK PERLAKUAN/OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	H.J	150	76	87
2	M S	278	160	139
3	Sm	188	120	188
4	Wo	126	95	95
5	Sd	166	93	90
6	A K	138	113	108
7	Bdw	160	107	86
8	Mdji	122	102	109
9	Tlo	96	89	108
10	Sdj	217	67	86
11	A H	319	159	229
12	Sko	278	111	87
13	Shd	100	89	87

DATA PENELITIAN VARIABEL TERGANTUNG DENGAN PARAMETER GULA DARAH PADA KELOMPOK KONTROL/NON OHB

NO	NAMA	PRA OHB	HARI KE-5	HARI KE-10
1	Sto	146	204	244
2	Pjn	105	147	137
3	Pto	193	201	162
4	Sr	164	199	203
5	Kb	387	316	175
6	St	180	199	162
7	E.K	132	161	118
8	Sgt	176	143	143
9	S.A	183	155	113
10	S.S	188	156	210
11	D.J	147	95	159
12	E.Y	137	100	127
13	M.M	360	380	221

Lampiran 7 : Analisis data variabel moderator kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Oneway

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	5% 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	166.48	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	6.9269	.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 8 : Analisis data pra OHB variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
MDA_P1	Perlakuan	.14023	.047891	13
	Kontrol	.15192	.084020	13
	Total	.14608	.067268	26
TRIGLISERIDE_1	Perlakuan	236.00	102.703	13
	Kontrol	215.62	113.321	13
	Total	225.81	106.467	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

Box's M	11.462
F	1.649
df1	6
df2	4173.283
Sig.	.130

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

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests

Effect	Value	F	Hypothesis d	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^f
Intercep Pillai's Trace	.913	76.987 ^b	3.000	22.000	.000	.913	230.961	1.000
Wilks' Lambda	.087	76.987 ^b	3.000	22.000	.000	.913	230.961	1.000
Hotelling's Trac	10.498	76.987 ^b	3.000	22.000	.000	.913	230.961	1.000
Roy's Largest R	10.498	76.987 ^b	3.000	22.000	.000	.913	230.961	1.000
KEL Pillai's Trace	.028	.214 ^b	3.000	22.000	.886	.028	.641	.084
Wilks' Lambda	.972	.214 ^b	3.000	22.000	.886	.028	.641	.084
Hotelling's Trac	.029	.214 ^b	3.000	22.000	.886	.028	.641	.084
Roy's Largest R	.029	.214 ^b	3.000	22.000	.886	.028	.641	.084

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
MDA_P1	.525	1	24	.476
TRIGLISERIDE_1	.055	1	24	.817
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 ^f
Corrected Model	MDA_P1	.001 ^b	1	.001	.190	.667	.008	.190	.070
	TRIGLISERIDE	2700.962 ^c	1	2700.962	.231	.635	.010	.231	.075
	GULA_D_1	984.615 ^d	1	984.615	.159	.694	.007	.159	.067
Intercept	MDA_P1	.555	1	.555	118.637	.000	.832	118.637	1.000
	TRIGLISERIDE	5716.962	1	5716.962	113.359	.000	.825	113.359	1.000
	GULA_D_1	9496.000	1	9496.000	145.057	.000	.858	145.057	1.000
KEL	MDA_P1	.001	1	.001	.190	.667	.008	.190	.070
	TRIGLISERIDE	2700.962	1	2700.962	.231	.635	.010	.231	.075
	GULA_D_1	984.615	1	984.615	.159	.694	.007	.159	.067
Error	MDA_P1	.112	24	.005					
	TRIGLISERIDE	10677.077	24	444.878					
	GULA_D_1	8823.385	24	367.637					
Total	MDA_P1	.668	26						
	TRIGLISERIDE	9095.000	26						
	GULA_D_1	9304.000	26						
Corrected Total	MDA_P1	.113	25						
	TRIGLISERIDE	3378.038	25						
	GULA_D_1	9808.000	25						

a. Computed using alpha = .05

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

c. R Squared = .010 (Adjusted R Squared = -.032)

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

Lampiran 9: Analisis data OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
MDA_P2	Perlakuan	.08569	.042169	13
	Kontrol	.13915	.105784	13
	Total	.11242	.083475	26
TRIGLISERIDE_2	Perlakuan	191.46	79.582	13
	Kontrol	161.38	86.186	13
	Total	176.42	82.708	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^a

Box's M	26.908
F	3.871
df1	6
df2	4173.283
Sig.	.001

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

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Intercep Pillai's Trace	.895	62.342 ^b	3.000	22.000	.000	.895	187.025	1.000
Wilks' Lambda	.105	62.342 ^b	3.000	22.000	.000	.895	187.025	1.000
Hotelling's Trace	8.501	62.342 ^b	3.000	22.000	.000	.895	187.025	1.000
Roy's Largest Root	8.501	62.342 ^b	3.000	22.000	.000	.895	187.025	1.000
KEL Pillai's Trace	.446	5.914 ^b	3.000	22.000	.004	.446	17.741	.913
Wilks' Lambda	.554	5.914 ^b	3.000	22.000	.004	.446	17.741	.913
Hotelling's Trace	.806	5.914 ^b	3.000	22.000	.004	.446	17.741	.913
Roy's Largest Root	.806	5.914 ^b	3.000	22.000	.004	.446	17.741	.913

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
MDA_P2	5.561	1	24	.027
TRIGLISERIDE_2	.095	1	24	.760
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 ^a
Corrected Model	MDA_P2	.019 ^b	1	.019	2.865	.103	.107	2.865	.369
	TRIGLISERIDE	5880.038 ^c	1	5880.038	.855	.364	.034	.855	.144
	GULA_D_2	44447.115 ^d	1	44447.115	12.383	.002	.340	12.383	.921
Intercept	MDA_P2	.329	1	.329	50.678	.000	.679	50.678	1.000
	TRIGLISERIDE	9252.654	1	9252.654	117.612	.000	.831	117.612	1.000
	GULA_D_2	6252.654	1	6252.654	157.758	.000	.868	157.758	1.000
KEL	MDA_P2	.019	1	.019	2.865	.103	.107	2.865	.369
	TRIGLISERIDE	5880.038	1	5880.038	.855	.364	.034	.855	.144
	GULA_D_2	44447.115	1	44447.115	12.383	.002	.340	12.383	.921
Error	MDA_P2	.156	24	.006					
	TRIGLISERIDE	5136.308	24	6880.679					
	GULA_D_2	6145.231	24	3589.385					
Total	MDA_P2	.503	26						
	TRIGLISERIDE	6269.000	26						
	GULA_D_2	6845.000	26						
Corrected Total	MDA_P2	.174	25						
	TRIGLISERIDE	71016.346	25						
	GULA_D_2	80592.346	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .107 (Adjusted R Squared = .069)

c. R Squared = .034 (Adjusted R Squared = -.006)

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

Lampiran 10 : Analisis data OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
MDA_P3	Perlakuan	.34538	.329203	13
	Kontrol	.19177	.187512	13
	Total	.26858	.273920	26
TRIGLISERIDE_3	Perlakuan	165.77	76.941	13
	Kontrol	167.77	47.417	13
	Total	166.77	62.624	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^a

Box's M	9.050
F	1.302
df1	6
df2	4173.283
Sig.	.252

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

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Intercep Pillai's Trace	.944	123.542 ^b	3.000	22.000	.000	.944	370.627	1.000
Wilks' Lambda	.056	123.542 ^b	3.000	22.000	.000	.944	370.627	1.000
Hotelling's Trace	16.847	123.542 ^b	3.000	22.000	.000	.944	370.627	1.000
Roy's Largest R	16.847	123.542 ^b	3.000	22.000	.000	.944	370.627	1.000
KEL Pillai's Trace	.316	3.393 ^b	3.000	22.000	.036	.316	10.178	.685
Wilks' Lambda	.684	3.393 ^b	3.000	22.000	.036	.316	10.178	.685
Hotelling's Trace	.463	3.393 ^b	3.000	22.000	.036	.316	10.178	.685
Roy's Largest R	.463	3.393 ^b	3.000	22.000	.036	.316	10.178	.685

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
MDA_P3	15.600	1	24	.001
TRIGLISERIDE_3	1.680	1	24	.207
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 ^a
Corrected Model	MDA_P3	.153 ^b	1	.153	2.137	.157	.082	2.137	.289
	TRIGLISERIDE	26.000 ^c	1	26.000	.006	.937	.000	.006	.051
	GULA_D_3	7524.038 ^d	1	7524.038	9.419	.005	.282	9.419	.837
Intercept	MDA_P3	1.875	1	1.875	26.133	.000	.521	26.133	.998
	TRIGLISERIDE	23111.385	1	23111.385	177.055	.000	.881	177.055	1.000
	GULA_D_3	8881.885	1	8881.885	278.887	.000	.921	278.887	1.000
KEL	MDA_P3	.153	1	.153	2.137	.157	.082	2.137	.289
	TRIGLISERIDE	26.000	1	26.000	.006	.937	.000	.006	.051
	GULA_D_3	7524.038	1	7524.038	9.419	.005	.282	9.419	.837
Error	MDA_P3	1.722	24	.072					
	TRIGLISERIDE	408018.615	24	4084.109					
	GULA_D_3	14653.077	24	1860.545					
Total	MDA_P3	3.751	26						
	TRIGLISERIDE	21156.000	26						
	GULA_D_3	81059.000	26						
Corrected Total	MDA_P3	1.876	25						
	TRIGLISERIDE	2044.615	25						
	GULA_D_3	82177.115	25						

a. Computed using alpha = .05

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

c. R Squared = .000 (Adjusted R Squared = -.041)

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

Lampiran 11 : Analisis data perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah.

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
D_(MDA2-MDA1)	Perlakuan	-.05454	.054999	13
	Kontrol	-.01277	.052092	13
	Total	-.03365	.056640	26
D_(TRIGLI2-TRIGL1)	Perlakuan	-44.53846	51.768097	13
	Kontrol	-54.23077	61.922201	13
	Total	-49.38462	56.136318	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

Box's M	5.540
F	.797
df1	6
df2	4173.283
Sig.	.572

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

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^a	
Intercept	Pillai's Trace	.703	17.331 ^b	3.000	22.000	.000	.703	51.993	1.000
	Wilks' Lambda	.297	17.331 ^b	3.000	22.000	.000	.703	51.993	1.000
	Hotelling's Trace	2.363	17.331 ^b	3.000	22.000	.000	.703	51.993	1.000
	Roy's Largest Root	2.363	17.331 ^b	3.000	22.000	.000	.703	51.993	1.000
KEL	Pillai's Trace	.404	4.966 ^b	3.000	22.000	.009	.404	14.898	.855
	Wilks' Lambda	.596	4.966 ^b	3.000	22.000	.009	.404	14.898	.855
	Hotelling's Trace	.677	4.966 ^b	3.000	22.000	.009	.404	14.898	.855
	Roy's Largest Root	.677	4.966 ^b	3.000	22.000	.009	.404	14.898	.855

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
D_(MDA2-MDA1)	.524	1	24	.476
D_(TRIGLI2-TRIGL1)	.196	1	24	.662
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 ^a
Corrected Model	D_(MDA2-MDA)	.011 ^b	1	.011	3.952	.058	.141	3.952	.479
	D_(TRIGLI2-TRIGLI1)	610.615 ^c	1	610.615	.187	.669	.008	.187	.070
	D_(GULA2-GULA1)	2200.962 ^d	1	2200.962	12.934	.001	.350	12.934	.932
Intercept	D_(MDA2-MDA)	.029	1	.029	10.263	.004	.300	10.263	.867
	D_(TRIGLI2-TRIGLI1)	3409.846	1	3409.846	19.468	.000	.448	19.468	.988
	D_(GULA2-GULA1)	38384.654	1	38384.654	15.418	.001	.391	15.418	.964
KEL	D_(MDA2-MDA)	.011	1	.011	3.952	.058	.141	3.952	.479
	D_(TRIGLI2-TRIGLI1)	610.615	1	610.615	.187	.669	.008	.187	.070
	D_(GULA2-GULA1)	2200.962	1	2200.962	12.934	.001	.350	12.934	.932
Error	D_(MDA2-MDA)	.069	24	.003					
	D_(TRIGLI2-TRIGLI1)	8171.538	24	3257.147					
	D_(GULA2-GULA1)	9751.385	24	2489.641					
Total	D_(MDA2-MDA)	.110	26						
	D_(TRIGLI2-TRIGLI1)	2192.000	26						
	D_(GULA2-GULA1)	30337.000	26						
Corrected Total	D_(MDA2-MDA)	.080	25						
	D_(TRIGLI2-TRIGLI1)	8782.154	25						
	D_(GULA2-GULA1)	1952.346	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .141 (Adjusted R Squared = .106)

c. R Squared = .008 (Adjusted R Squared = -.034)

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

Lampiran 12 : Analisis data perubahan (delta) antara OHB hari ke-5 dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
D_(MDA3-MDA2)	Perlakuan	.25969	.312537	13
	Kontrol	.05262	.190301	13
	Total	.15615	.274623	26
D_(TRIGLI3-TRIGL2)	Perlakuan	-25.69231	55.616821	13
	Kontrol	6.38462	65.519130	13
	Total	-9.65385	61.747837	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	12.434
F	1.789
df1	6
df2	4173.283
Sig.	.097

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

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Intercep Pillai's Trace	.305	3.223 ^b	3.000	22.000	.042	.305	9.669	.660
Wilks' Lambda	.695	3.223 ^b	3.000	22.000	.042	.305	9.669	.660
Hotelling's Trac	.439	3.223 ^b	3.000	22.000	.042	.305	9.669	.660
Roy's Largest R	.439	3.223 ^b	3.000	22.000	.042	.305	9.669	.660
KEL Pillai's Trace	.258	2.550 ^b	3.000	22.000	.082	.258	7.649	.548
Wilks' Lambda	.742	2.550 ^b	3.000	22.000	.082	.258	7.649	.548
Hotelling's Trac	.348	2.550 ^b	3.000	22.000	.082	.258	7.649	.548
Roy's Largest R	.348	2.550 ^b	3.000	22.000	.082	.258	7.649	.548

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
D_(MDA3-MDA2)	13.032	1	24	.001
D_(TRIGLI3-TRIGL2)	.044	1	24	.835
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 ^a
Corrected Model	D_(MDA3-MDA)	.279 ^b	1	.279	4.163	.052	.148	4.163	.499
	D_(TRIGLI3-TR)	6688.038 ^c	1	6688.038	1.811	.191	.070	1.811	.253
	D_(GULA3-GU)	6153.846 ^d	1	6153.846	2.243	.147	.085	2.243	.301
Intercept	D_(MDA3-MDA)	.634	1	.634	9.470	.005	.283	9.470	.839
	D_(TRIGLI3-TR)	2423.115	1	2423.115	.656	.426	.027	.656	.122
	D_(GULA3-GU)	1034.462	1	1034.462	.377	.545	.015	.377	.091
KEL	D_(MDA3-MDA)	.279	1	.279	4.163	.052	.148	4.163	.499
	D_(TRIGLI3-TR)	6688.038	1	6688.038	1.811	.191	.070	1.811	.253
	D_(GULA3-GU)	6153.846	1	6153.846	2.243	.147	.085	2.243	.301
Error	D_(MDA3-MDA)	1.607	24	.067					
	D_(TRIGLI3-TR)	8631.846	24	3692.994					
	D_(GULA3-GU)	5845.692	24	2743.571					
Total	D_(MDA3-MDA)	2.519	26						
	D_(TRIGLI3-TR)	7743.000	26						
	D_(GULA3-GU)	3034.000	26						
Corrected Total	D_(MDA3-MDA)	1.885	25						
	D_(TRIGLI3-TR)	5319.885	25						
	D_(GULA3-GU)	1999.538	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .148 (Adjusted R Squared = .112)

c. R Squared = .070 (Adjusted R Squared = .031)

d. R Squared = .085 (Adjusted R Squared = .047)

Lampiran 13 : Analisis data perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
KEL 1	Perlakuan	13
2	Kontrol	13

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
D_(MDA3-MDA1)	Perlakuan	.20515	.346055	13
	Kontrol	.03985	.189220	13
	Total	.12250	.285960	26
D_(TRIGLI3-TRIGL1)	Perlakuan	-70.23077	79.962652	13
	Kontrol	-47.84615	93.013302	13
	Total	-59.03846	85.744495	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

Box's M	6.995
F	1.006
df1	6
df2	4173.283
Sig.	.419

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

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Intercep Pillai's Trace	.494	7.165 ^b	3.000	22.000	.002	.494	21.496	.958
Wilks' Lambda	.506	7.165 ^b	3.000	22.000	.002	.494	21.496	.958
Hotelling's Trace	.977	7.165 ^b	3.000	22.000	.002	.494	21.496	.958
Roy's Largest Root	.977	7.165 ^b	3.000	22.000	.002	.494	21.496	.958
KEL Pillai's Trace	.172	1.520 ^b	3.000	22.000	.237	.172	4.561	.344
Wilks' Lambda	.828	1.520 ^b	3.000	22.000	.237	.172	4.561	.344
Hotelling's Trace	.207	1.520 ^b	3.000	22.000	.237	.172	4.561	.344
Roy's Largest Root	.207	1.520 ^b	3.000	22.000	.237	.172	4.561	.344

a. Computed using alpha = .05

b. Exact statistic

c. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
D_(MDA3-MDA1)	15.869	1	24	.001
D_(TRIGLI3-TRIGL1)	.031	1	24	.862
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 ^a
Corrected Model	D_(MDA3-MDA)	.178 ^b	1	.178	2.284	.144	.087	2.284	.306
	D_(TRIGLI3-TR)	3256.962 ^c	1	3256.962	.433	.517	.018	.433	.097
	D_(GULA3-GUL)	10200.962 ^d	1	10200.962	2.023	.168	.078	2.023	.277
Intercept	D_(MDA3-MDA)	.390	1	.390	5.016	.035	.173	5.016	.575
	D_(TRIGLI3-TR)	90624.038	1	90624.038	12.047	.002	.334	12.047	.914
	D_(GULA3-GUL)	52021.885	1	52021.885	10.317	.004	.301	10.317	.869
KEL	D_(MDA3-MDA)	.178	1	.178	2.284	.144	.087	2.284	.306
	D_(TRIGLI3-TR)	3256.962	1	3256.962	.433	.517	.018	.433	.097
	D_(GULA3-GUL)	10200.962	1	10200.962	2.023	.168	.078	2.023	.277
Error	D_(MDA3-MDA)	1.867	24	.078					
	D_(TRIGLI3-TR)	70546.000	24	2939.417					
	D_(GULA3-GUL)	51016.154	24	2125.673					
Total	D_(MDA3-MDA)	2.434	26						
	D_(TRIGLI3-TR)	74427.000	26						
	D_(GULA3-GUL)	53239.000	26						
Corrected Total	D_(MDA3-MDA)	2.044	25						
	D_(TRIGLI3-TR)	33802.962	25						
	D_(GULA3-GUL)	11217.115	25						

a. Computed using alpha = .05

b. R Squared = .087 (Adjusted R Squared = .049)

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

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

Lampiran 14 : Analisis pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, dan gula darah

Discriminant

Analysis Case Processing Summary

Unweighted Cases		N	Percent
Valid		26	100.0
Excluded	Missing or out-of-range group codes	0	.0
	At least one missing discriminating variable	0	.0
	Both missing or out-of-range group codes and at least one missing discriminating variable	0	.0
	Total	0	.0
Total		26	100.0

Group Statistics

KEL		Mean	Std. Deviation	Valid N (listwise)	
				Unweighted	Weighted
Perlakuan	D_(MDA2-MDA1)	-.05454	.054999	13	13.000
	D_(TRIGLI2-TRIGL1)	-44.53846	51.768097	13	13.000
	D_(GULA2-GULA1)	-73.61538	57.631789	13	13.000
Kontrol	D_(MDA2-MDA1)	-.01277	.052092	13	13.000
	D_(TRIGLI2-TRIGL1)	-54.23077	61.922201	13	13.000
	D_(GULA2-GULA1)	-3.23077	40.716814	13	13.000
Total	D_(MDA2-MDA1)	-.03365	.056640	26	26.000
	D_(TRIGLI2-TRIGL1)	-49.38462	56.136318	26	26.000
	D_(GULA2-GULA1)	-38.42308	60.647291	26	26.000

Tests of Equality of Group Means

	Wilks' Lambda	F	df1	df2	Sig.
D_(MDA2-MDA1)	.859	3.952	1	24	.058
D_(TRIGLI2-TRIGL1)	.992	.187	1	24	.669
D_(GULA2-GULA1)	.650	12.934	1	24	.001

Pooled Within-Groups Matrices

		D_ (MDA2-MDA1)	D_ (TRIGLI2- TRIGL1)	D_ (GULA2- GULA1)
Correlation	D_(MDA2-MDA1)	1.000	-.322	.049
	D_(TRIGLI2-TRIGL1)	-.322	1.000	.003
	D_(GULA2-GULA1)	.049	.003	1.000

Analysis 1**Box's Test of Equality of Covariance Matrices****Log Determinants**

KEL	Rank	Log Determinant
Perlakuan	2	2.274
Kontrol	2	1.334
Pooled within-groups	2	1.964

The ranks and natural logarithms of determinants printed are those of the group covariance matrices.

Test Results

Box's M		3.837
F	Approx.	1.164
	df1	3
	df2	103680.0
	Sig.	.322

Tests null hypothesis of equal population covariance matrices.

Stepwise Statistics

Variables Entered/Removed^d

Step	Entered	Wilks' Lambda							
		Statistic	df1	df2	df3	Exact F			
						Statistic	df1	df2	Sig.
1	D_(GULA2-GULA1)	.650	1	1	24.000	12.934	1	24.000	.001
2	D_(MDA2-MDA1)	.597	2	1	24.000	7.777	2	23.000	.003

At each step, the variable that minimizes the overall Wilks' Lambda is entered.

- a. Maximum number of steps is 6.
- b. Maximum significance of F to enter is .5.
- c. Minimum significance of F to remove is .6.
- d. F level, tolerance, or VIN insufficient for further computation.

Variables in the Analysis

Step		Tolerance	Sig. of F to Remove	Wilks' Lambda
1	D_(GULA2-GULA1)	1.000	.001	
2	D_(GULA2-GULA1)	.998	.004	.859
	D_(MDA2-MDA1)	.998	.165	.650

Variables Not in the Analysis

Step		Tolerance	Min. Tolerance	Sig. of F to Enter	Wilks' Lambda
0	D_(MDA2-MDA1)	1.000	1.000	.058	.859
	D_(TRIGLI2-TRIGL1)	1.000	1.000	.669	.992
	D_(GULA2-GULA1)	1.000	1.000	.001	.650
1	D_(MDA2-MDA1)	.998	.998	.165	.597
	D_(TRIGLI2-TRIGL1)	1.000	1.000	.730	.646
2	D_(TRIGLI2-TRIGL1)	.896	.894	.913	.596

Wilks' Lambda

Step	Number of Variables	Lambda	df1	df2	df3	Exact F			
						Statistic	df1	df2	Sig.
1	1	.650	1	1	24	12.934	1	24.000	.001
2	2	.597	2	1	24	7.777	2	23.000	.003

Summary of Canonical Discriminant Functions

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	.676 ^a	100.0	100.0	.635

a. First 1 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1	.597	11.881	2	.003

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	Function
	1
D_(MDA2-MDA1)	.451
D_(GULA2-GULA1)	.871

Structure Matrix

	Function
	1
D_(GULA2-GULA1)	.893
D_(MDA2-MDA1)	.493
D_(TRIGLI2-TRIGL1) ^a	-.143

Pooled within-groups correlations between discriminating variables and standardized canonical discriminant functions
Variables ordered by absolute size of correlation within function.

a. This variable not used in the analysis.

Canonical Discriminant Function Coefficients

	Function
	1
D_(MDA2-MDA1)	8.423
D_(GULA2-GULA1)	.017
(Constant)	.954

Unstandardized coefficients

Functions at Group Centroids

	Function
KEL	1
Perlakuan	-.790
Kontrol	.790

Unstandardized canonical discriminant functions evaluated at group means

Classification Statistics

Classification Processing Summary

Processed		26
Excluded	Missing or out-of-range group codes	0
	At least one missing discriminating variable	0
Used in Output		26

Prior Probabilities for Groups

KEL	Prior	Cases Used in Analysis	
		Unweighted	Weighted
Perlakuan	.500	13	13.000
Kontrol	.500	13	13.000
Total	1.000	26	26.000

Classification Function Coefficients

	KEL	
	Perlakuan	Kontrol
D_(MDA2-MDA1)	-17.712	-4.402
D_(GULA2-GULA1)	-.029	-.001
(Constant)	-2.231	-.723

Fisher's linear discriminant functions

Classification Results^{a,c}

			Predicted Group Membership		Total
			Perlakuan	Kontrol	
Original	Count	Perlakuan	11	2	13
		Kontrol	4	9	13
	%	Perlakuan	84.6	15.4	100.0
		Kontrol	30.8	69.2	100.0
Cross-validated ^a	Count	Perlakuan	11	2	13
		Kontrol	4	9	13
	%	Perlakuan	84.6	15.4	100.0
		Kontrol	30.8	69.2	100.0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 76.9% of original grouped cases correctly classified.

c. 76.9% of cross-validated grouped cases correctly classified.

General Linear Model**Between-Subjects Factors**

	Value Label	N
KEL	1 Perlakuan	13
	2 Kontrol	13

Descriptive Statistics

	KEL	Mean	Std. Deviation	N
P_MDA	Perlakuan	.9660	.97415	13
	Kontrol	.0562	.22931	13
	Total	.5111	.83423	26
P_GULA	Perlakuan	2.1348	1.67132	13
	Kontrol	.0032	.04072	13
	Total	1.0690	1.58839	26

Box's Test of Equality of Covariance Matrices

Box's M	93.598
F	28.382
df1	3
df2	103680.0
Sig.	.000

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

a. Design: Intercept+KEL

Multivariate Tests

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	
Intercept	Pillai's Trace	.637	20.156 ^a	2.000	23.000	.000	.637
	Wilks' Lambda	.363	20.156 ^a	2.000	23.000	.000	.637
	Hotelling's Trace	1.753	20.156 ^a	2.000	23.000	.000	.637
	Roy's Largest Root	1.753	20.156 ^a	2.000	23.000	.000	.637
KEL	Pillai's Trace	.615	18.367 ^a	2.000	23.000	.000	.615
	Wilks' Lambda	.385	18.367 ^a	2.000	23.000	.000	.615
	Hotelling's Trace	1.597	18.367 ^a	2.000	23.000	.000	.615
	Roy's Largest Root	1.597	18.367 ^a	2.000	23.000	.000	.615

a. Exact statistic

b. Design: Intercept+KEL

Levene's Test of Equality of Error Variances

	F	df1	df2	Sig.
P_MDA	5.454	1	24	.028
P_GULA	26.396	1	24	.000

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

a. Design: Intercept+KEL

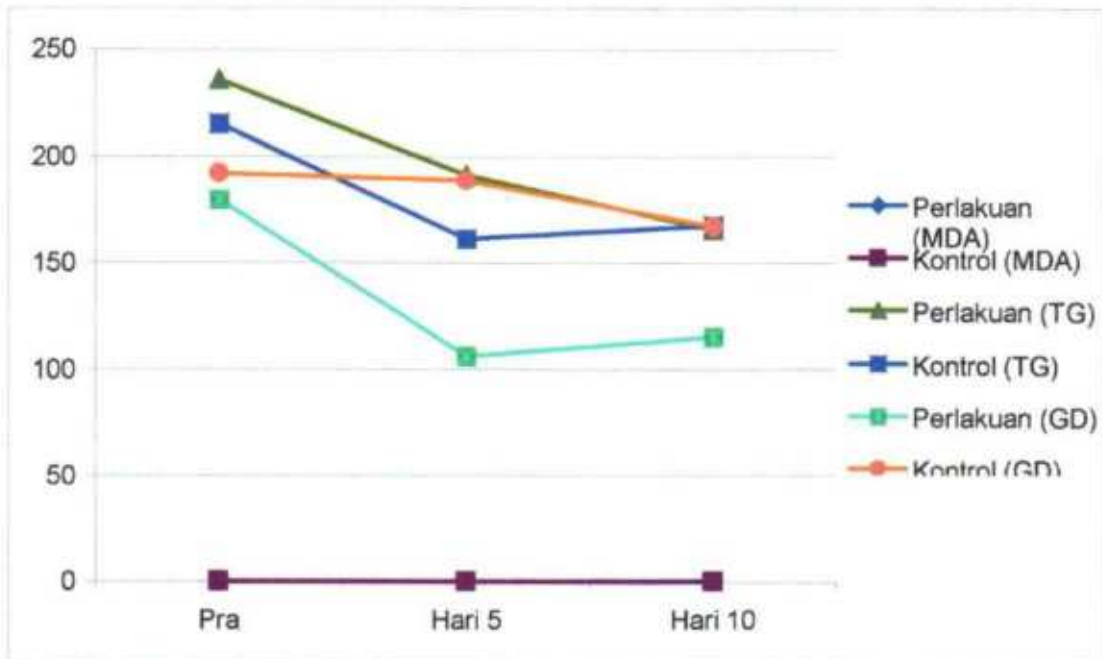
Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	P_MDA	5.380 ^a	1	5.380	10.743	.003	.309
	P_GULA	29.535 ^b	1	29.535	21.134	.000	.468
Intercept	P_MDA	6.792	1	6.792	13.562	.001	.361
	P_GULA	29.714	1	29.714	21.262	.000	.470
KEL	P_MDA	5.380	1	5.380	10.743	.003	.309
	P_GULA	29.535	1	29.535	21.134	.000	.468
Error	P_MDA	12.019	24	.501			
	P_GULA	33.540	24	1.397			
Total	P_MDA	24.190	26				
	P_GULA	92.788	26				
Corrected Total	P_MDA	17.399	25				
	P_GULA	63.074	25				

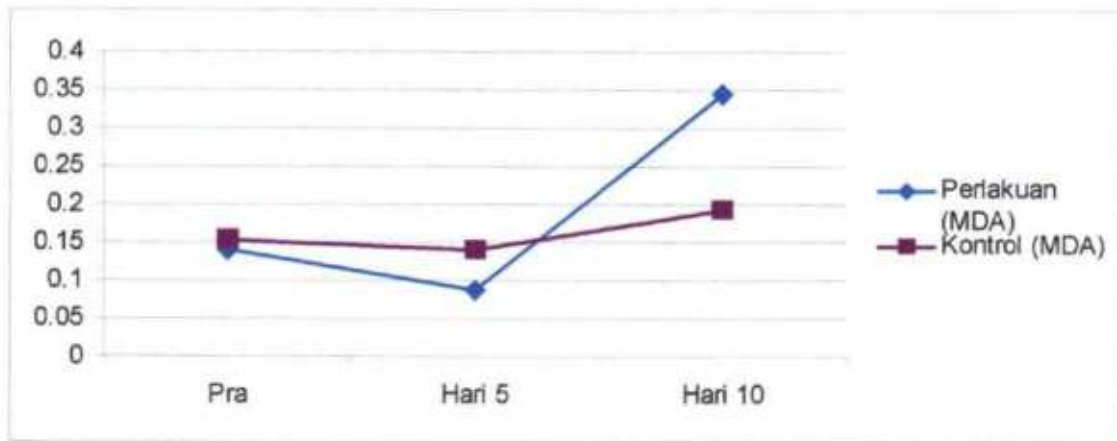
^a.R Squared = .309 (Adjusted R Squared = .280)

^b.R Squared = .468 (Adjusted R Squared = .446)

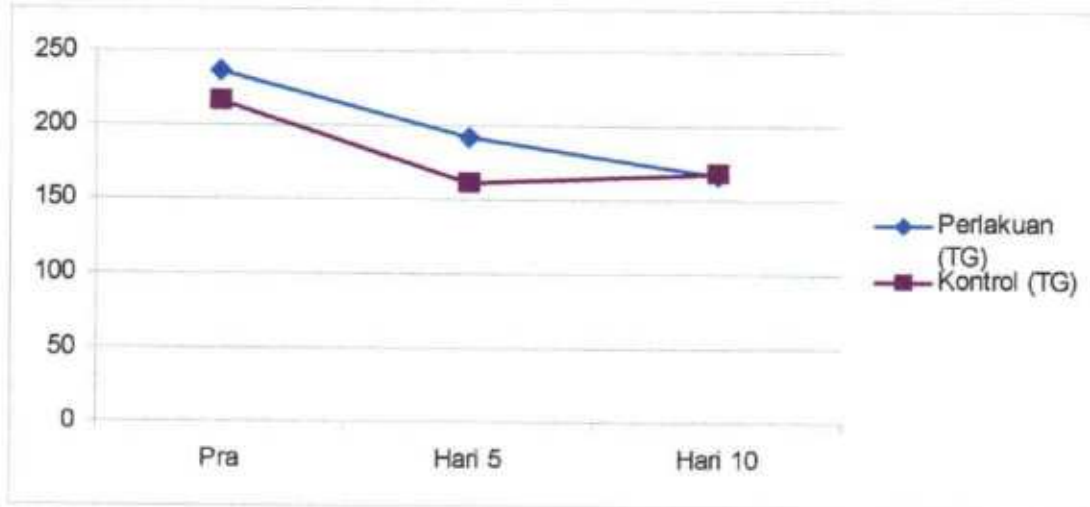
Lampiran 15 : Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah



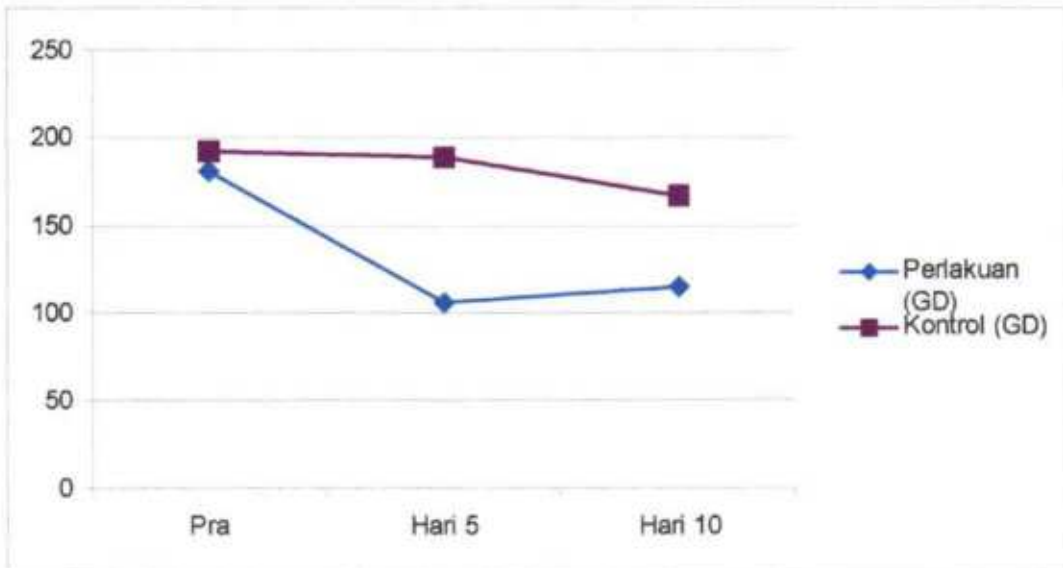
Lampiran 16 : Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA



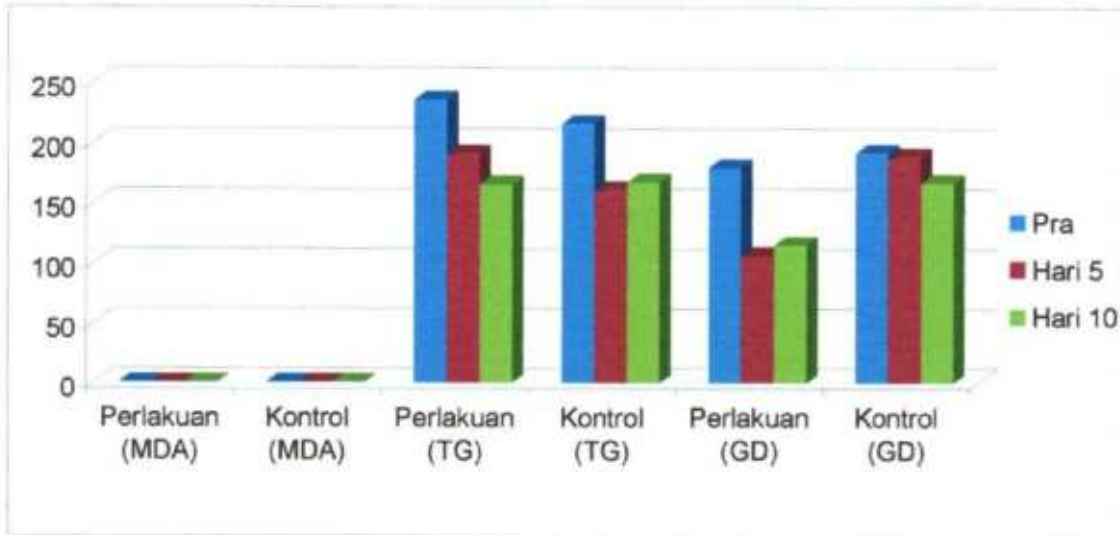
Lampiran 17 : Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel trigliserida



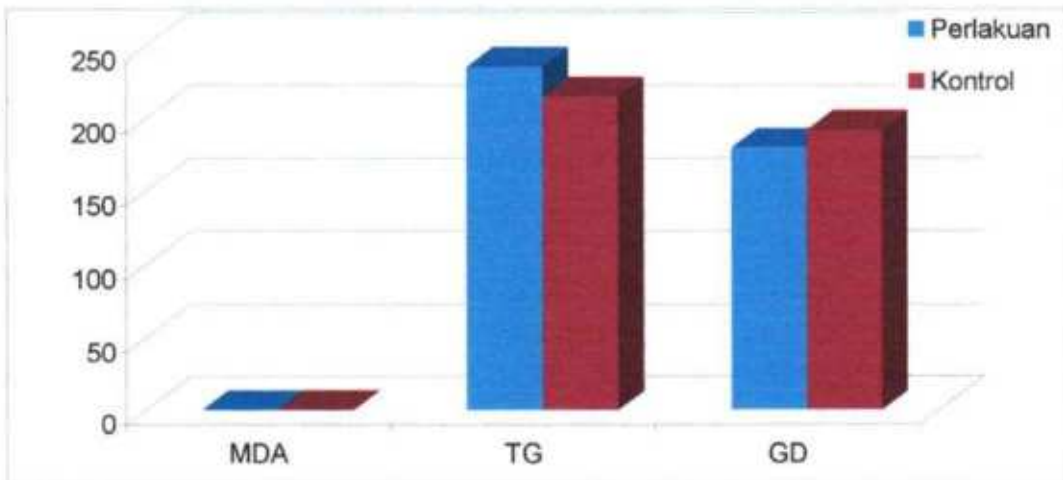
Lampiran 18 : Kurve kondisi perubahan (delta) pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel gula darah



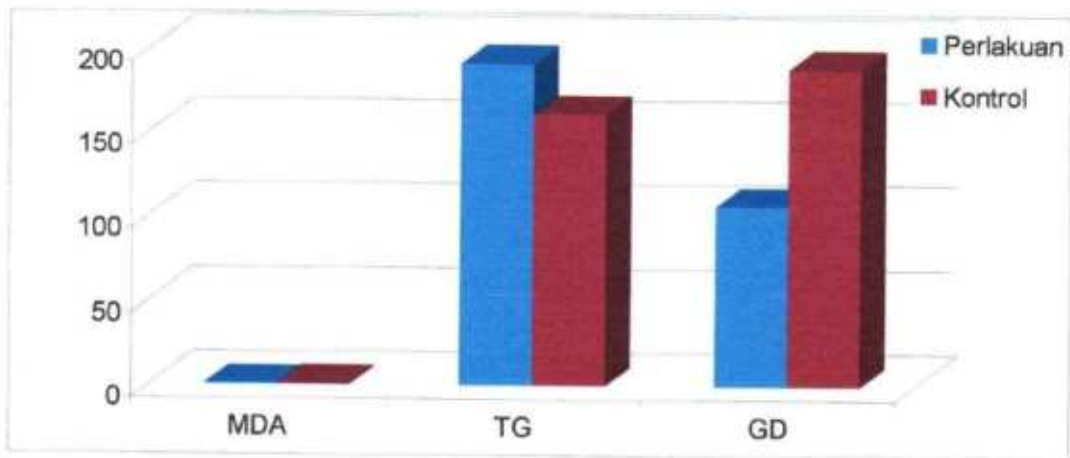
Lampiran 19 : Diagram batang pra OHB, OHB hari ke-5, dan OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah



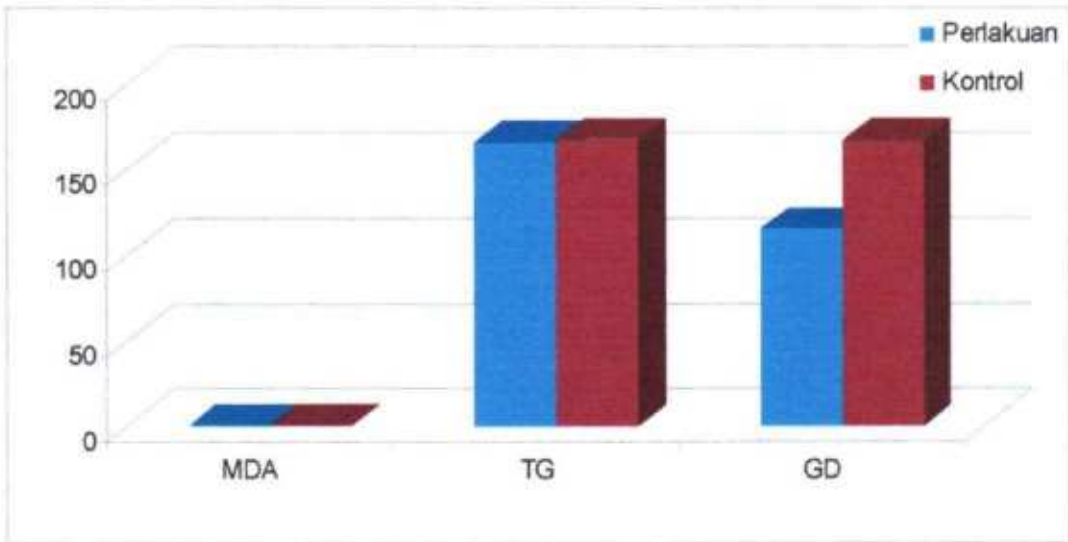
Lampiran 20 : Diagram batang kondisi pra OHB variabel MDA, trigliserida, dan gula darah



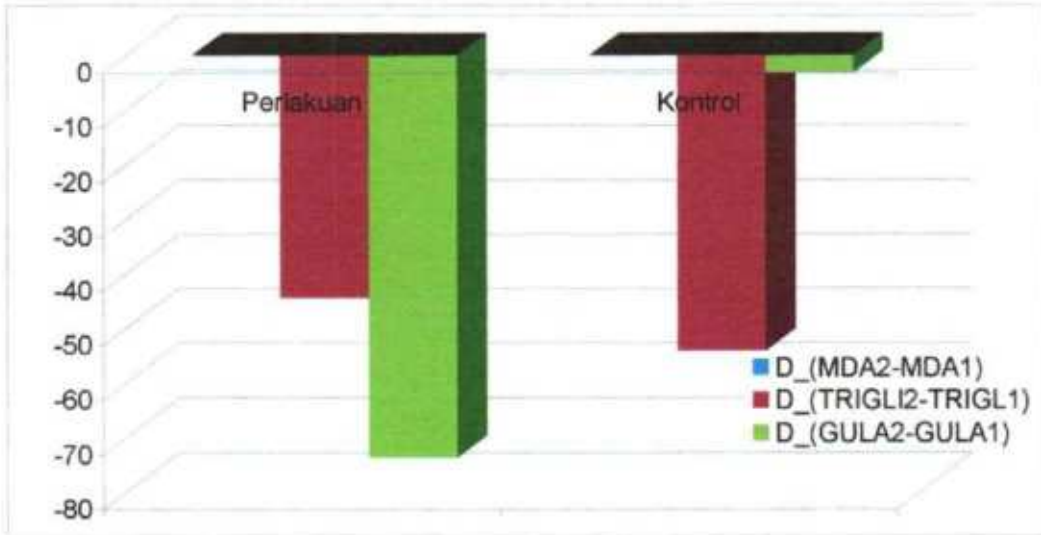
Lampiran 21 : Diagram batang kondisi OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah



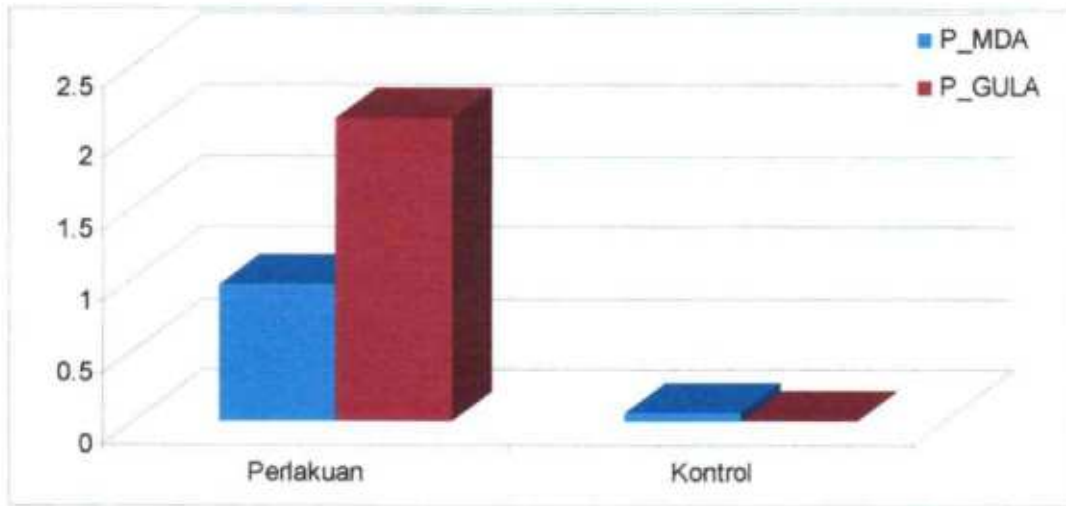
Lampiran 22 : Diagram batang kondisi OHB hari ke-10 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah



Lampiran 23 : Diagram batang perubahan (delta) antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA, trigliserida, dan gula darah



Lampiran 24 : Diagram batang pola diskriminan antara pra OHB dengan OHB hari ke-5 variabel MDA dan gula darah



Lampiran 25 :



Pasien perlakuan waktu mendapat terapi oksigen hiperbarik



Pengambilan sampel darah pada pasien perlakuan

Lampiran 26 :



Alat spektrofotometer untuk mengukur kadar gula darah



Alat untuk mengukur kadar trigliserida

Lampiran 27 :



Alat untuk mengukur kadar MDA (*Malondialdehid*)