

TESIS

EFEK METFORMIN SEBAGAI RETRIKSI KALORI MIMETIK TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH PUASA DAN SERUM IGF-1 TIKUS TUA GALUR WISTAR

Disusun dan diajukan oleh

dr. ARLINA WIYATA GAMA

NIM P062191030



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021

**EFEK METFORMIN SEBAGAI RETRIKSI KALORI MIMETIK
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH PUASA DAN
SERUM IGF-1 TIKUS TUA GALUR WISTAR**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

dr. ARLINA WIYATA GAMA

Kepada

SEKOLAH PASCA SARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

MAN PERSETUJUAN

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**EFEK METFORMIN SEBAGAI RETRIKSI KALORI MIMETIK
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH PUASA DAN SERUM
IGF-1 TIKUS TUA GALUR WISTAR**

Disusun dan diajukan oleh

**ARLINA WIYATA GAMA
NIM P062191030**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi **Ilmu Biomedik**
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
pada tanggal 7 Juni 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

dr. Arif Santoso, Sp.P(K), Ph.D., FAPSR
NIP. 197707152006041012

Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP. 19770121200312203

Ketua Program Studi,

Dekan Sekolah Pascasarjana,

Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
NIP. 19770121200312203

Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
NIP. 1967081990031001



PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arlina Wiyata Gama
NIM : P062191030
Program Studi : Ilmu Biomedik
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

PERAN METFORMIN SEBAGAI RETRIKSI KALORI MIMETIK DALAM KADAR GULA DARAH DAN KADAR SERUM IGF-1 PADA TIKUS TUA

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Mei 2021
Yang Menyatakan



Arlina Wiyata Gama

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT, karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan judul: **“EFEK METFORMIN SEBAGAI RETRIKSI KALORI MIMETIK TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH PUASA DAN SERUM IGF-1 TIKUS TUA GALUR WISTAR”**. Tesis ini disusun sebagai salah satu tugas akhir dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Magister M.Biomed (ARM) di Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **dr. Arif Santoso, Sp.P (K), Ph.D, FAPSR** sebagai pembimbing I dan **Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc** Sebagai pembimbing II atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan sampai dengan penulisan tesis ini. Terima kasih juga disampaikan kepada **Prof. Dr. dr. Nurpudji Astuti Daud, MPH., Sp.GK (K), Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes** dan **dr. Isra Wahid, S.Ked., Ph.D** sebagai penyanggah yang memberikan kritik dan saran dalam penelitian ini.

Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.**; seluruh staf pengajar beserta pegawai di Program Studi Ilmu Biomedik dan Sekolah Pascasarjana yang memberikan arahan, dukungan dan motivasi selama pendidikan.
2. Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin sekaligus penasihat akademik serta pembimbing II **Dr. dr.**

- Ika Yustisia, M.Sc** yang selalu mendukung dan memberikan arahan selama mengikuti proses pendidikan dan penelitian untuk karya tulis ini.
3. Ketua Konsentrasi Program Studi Aging and Regenerative Medicine sekaligus Pembimbing I **dr. Arif Santoso, Sp.P (K), Ph.D, FAPSR** yang selalu mendukung dan memberikan arahan selama mengikuti proses pendidikan dan penelitian untuk karya tulis ini.
 4. Kedua orang tua saya **Prof. Dr. Gagaring Pagalung, M.Si., Ak., CA., CMA., CSRA., Asean-CPA** dan **Nurfaidah, SE**, Suami saya **Ir. Jauhar Mukti, S.Hut., M.Hut**, ketiga buah hati saya **Muhammad Naufal Alfarizqi, Meiza Nayla Adzkiyah** dan **Muhammad Nafiz Alfarokh**, ketiga saudara saya **Dr. Athirah Rinandha Erag Radhini, S.IP., M.Si, Aisyah Tri Astari, BBA., MBA** dan **Ayudyah Dian Ima Sari, BBA**, dan keluarga besar penulis yang telah memberikan restu untuk penulis melanjutkan pendidikan, disertai dengan doa, kasih sayang, pengertian dan dukungan yang luar biasa selama penulis menjalani pendidikan.
 5. Seluruh pihak yang namanya tidak tercantum namun telah memberi kontribusi berupa pemikiran dan motivasi sehingga penulisan proposal tesis dapat diselesaikan dengan baik.

Semoga tesis ini dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang Ilmu Biomedik Aging and Regenerative Medicine di masa yang akan datang serta bermanfaat bagi para pembaca.

Makassar, Juni 2021

Penulis,

Arlina Wiyata Gama

ABSTRAK

ARLINA WIYATA GAMA. *Efek Metformin sebagai Restriksi Kalori Mimetik Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa dan Serum IGF-1 Tikus Tua Galur Wistar (dibimbing oleh Arif Santoso dan Ika Yustisia)*

Penuaan merupakan proses progresif yang tidak dapat dihindari, diantaranya adalah perubahan endokrin yang mengakibatkan resistensi insulin, peningkatan kadar glukosa dan penurunan hormon IGF-1. Studi menunjukkan intervensi diet dengan cara restriksi kalori dapat memperlambat proses penuaan endokrin. Metformin merupakan salah satu senyawa yang dapat meniru manfaat dari restriksi kalori, tanpa harus mengurangi jumlah asupan makanan. Metformin juga berperan penting dalam metabolisme insulin, proliferasi, diferensiasi dan apoptosis sel. Penelitian ini mengalalisa pemberian metformin sebagai restriksi kalori mimetik terhadap kadar glukosa darah puasa dan serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan galur wistar.

Penelitian eksperimental ini menggunakan *pre- and post-test with control group design*, dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (K), restriksi kalori 30% (P1), dan restriksi kalori mimetik dengan metformin 9mg/200 gr berat badan (P2). Tikus diaklimatisasi selama 7 hari dan intervensi perlakuan selama 30 hari. Penimbangan berat badan dilakukan tiap 3 hari sekali, pengambilan darah dilakukan pada hari ke-0, ke-15 dan ke-30 untuk mengukur kadar glukosa darah menggunakan glukometer dan serum IGF-1 menggunakan metode ELISA.

Penelitian ini menunjukkan terdapat perubahan berat badan yang signifikan ($p < 0,005$), pada kelompok K terjadi peningkatan sebesar 26,83 gr, sedangkan pada kelompok P1 mengalami penurunan sebesar 25,67 gr, kelompok P2 sebesar 20,00 gr. Terdapat perubahan kadar glukosa darah puasa yang signifikan ($p < 0,005$), yaitu kelompok K mengalami peningkatan sebesar 46,83 gr/dL, sedangkan pada kelompok P1 mengalami penurunan sebesar 24,00 gr/dL, kelompok P2 sebesar 18,83gr/dL. Terdapat perubahan kadar serum IGF-1 yang signifikan ($p < 0,005$), yaitu peningkatan pada semua kelompok dengan peningkatan tertinggi pada kelompok P1 sebesar 3,87 ng/mL dan terendah pada kelompok K sebesar 1,45 ng/mL. Pemberian metformin dan restriksi kalori menurunkan berat badan dan kadar glukosa darah, tetapi meningkatkan kadar serum IGF-1 tikus putih tua jantan.

Kata Kunci: *metformin; restriksi kalori mimetik; restriksi kalori; penuaan.*



ABSTRACT

ARLINA WIYATA GAMA. *Effects of Metformin as Calorie Restriction Mimetic on Fasting Blood Glucose and IGF-1 Serum Levels in old Rat* (supervised by **Arif Santoso** and **Ika Yustisia**)

Aging is a progressive process that cannot be avoided, including endocrine changes resulting in insulin resistance, increased blood glucose, and decreased IGF-1 hormone. Studies show that dietary intervention with calorie restriction can slow down the endocrine aging process. Metformin is a compound that can mimic the benefits of calorie restriction without having to reduce the amount of food intake. Metformin also plays an essential role in insulin metabolism, proliferation, differentiation, and apoptosis of cells. This research analyzed the effect of metformin as a calorie restriction mimetic on fasting blood glucose and IGF-1 serum levels in old white male Wistar rats.

This experimental research used a pre-and post-test pattern with a control group design, divided into three treatment groups; the control group (K), the 30% calorie restriction group (P1), and the calorie restriction mimetic with metformin 9 mg/ 200 gr body weight group (P2). Rats were acclimatized for seven days and treatment intervention for 30 days. Weighing body weight is done every three days, blood sampling is done on days 0, 15, and 30 to measure blood glucose using a glucometer and IGF-1 serum levels using an ELISA method.

This study showed a significant change in body weight ($p < 0.005$), in the K group, there was an increase of 26.83 gr, while the P1 group experienced a weight loss of 25.67 gr and the group P2 20.00 gr. There was a significant change in fasting blood glucose ($p < 0.005$) in the K group there was an increase of 46.83 gr/dL, while the P1 group experienced a decrease of 24.00 gr/dL and the P2 group was 18.83 gr/dL. There was a significant change in serum IGF-1 levels ($p < 0.005$), where there was an increase in all groups, the highest increase was in the P1 group of 3.87 ng/mL, and the lowest was in the K group of 1.45 ng/mL. Metformin administration and calorie restriction reduced body weight and blood glucose levels but increased IGF-1 serum levels of old white male rats.

Keywords: *metformin; calorie restriction mimetic; calorie restriction; aging*



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GRAFIK.....	xiii
LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Penuaan	7
2.2. Restriksi Kalori.....	8
2.3. Restriksi Kalori Mimetik.....	11
2.3.1. Metformin.....	12
2.3.2. Rapamycin.....	14
2.3.3. Resveratrol.....	15
2.4. <i>Insulin-like growth factor-1</i> (IGF-1).....	16
2.5. Glukosa Darah	17

2.6. Tikus Putih Jantan (<i>Rattus norvegicus</i>) galur Wistar	19
2.7. Kerangka Teori.....	23
2.8. Kerangka Konsep.....	23
2.9. Hipotesis Penelitian.....	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	25
3.1. Desain Penelitian.....	25
3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	26
3.3. Populasi Penelitian.....	27
3.4. Subyek Penelitian.....	27
3.5. Alat dan Bahan Penelitian	30
3.6. Prosedur Kerja.....	30
3.7. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	35
3.8. Alur Penelitian	37
3.9. Analisis Data	38
3.10. Etik Penelitian.....	38
3.11. Keterbatasan Penelitian.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1. Hasil.....	39
4.1.1. Gambaran Umum Hewan Coba	39
4.1.2. Perbedaan Rerata Perubahan Berat Badan Tikus Putih Jantan Galur Wistar.....	41
4.1.3. Perbedaan Rerata Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar.....	44
4.1.4. Perbedaan Rerata Kadar Serum IGF-1 Tikus Putih Jantan Galur Wistar.....	46
4.2. Pembahasan.....	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	57
5.1. Kesimpulan.....	57
5.2. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Faktor yang berhubungan dengan terjadinya penyakit terkait usia	8
Gambar 2. Spesies organisme dalam penelitian terkait restriksi kalori.....	9
Gambar 3. Restriksi Kalori dan Empat Hipotesis Penuaan	10
Gambar 4. Manfaat Restriksi Kalori.....	10
Gambar 5. Struktur Kimia Metformin	12
Gambar 6. Mekanisme Metformin pada Proses Penuaan	14
Gambar 7. Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) Jantan Galur Wistar	19
Gambar 8. Skema Rancangan Penelitian	25
Gambar 9. Pengenceran Larutan Standar	33
Gambar 10. Kurva Standar ELISA	60

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tipe Downstream dan Upstream Restriksi Kalori Mimetik. ²⁰	11
Tabel 2. Data Fisiologis Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	21
Tabel 3. Perbandingan usia relative tikus dengan usia manusia ³²	22
Tabel 4. Pengenceran Larutan Standar	33
Tabel 5. Karakteristik Tikus Putih Jantan Galur Wistar	40
Tabel 6. Rerata Perubahan Berat Badan Tikus Putih Jantan Galur Wistar.....	42
Tabel 7. Uji Beda Rerata Perubahan Berat Badan Tikus Putih Jantan Galur Wistar	42
Tabel 8. Rerata Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar	44
Tabel 9. Uji Beda Rerata Perubahan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar	45
Tabel 10. Rerata Kadar Serum IGF-1 Tikus Putih Jantan Galur Wistar	46
Tabel 11. Uji Beda Rerata Perubahan Kadar Serum IGF-1 Tikus Putih Jantan Galur Wistar	47
Tabel 12. Konversi dosis antara berbagai jenis hewan dan Manusia	64
Tabel 13. Volume Maksimum Larutan Sediaan Uji yang Dapat Diberikan pada Beberapa Hewan Uji (Ritschel, 1974)	65
Tabel 14. Komposisi Pakan AD II.....	68
Tabel 15. Komposisi Pakan Van der Voer	68
Tabel 16. Data Berat Badan, Kadar Glukosa Darah dan Kadar Serum IGF-1 Tikus Putih Jantan Galur Wistar.....	70
Tabel 17. Box's test of Equality of covariance matrices.....	71
Tabel 18. Uji Normalitas Selisih Perubahan Berat Badan, Kadar Glukosa Darah dan Kadar Serum IGF-1 Tikus Putih Jantan Galur Wistar.....	71
Tabel 19. Uji Homogenitas Selisih Perubahan Berat Badan, Kadar Glukosa Darah dan Kadar Serum IGF-1 Tikus Putih Jantan Galur Wistar.....	71
Tabel 20. Interpretasi Nilai Korelasi	77

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Data Perubahan Berat Badan Tikus Putih Jantan Galur Wistar tiap Kelompok	41
Grafik 2. Rerata Perubahan Berat Badan Tikus Putih Tua Jantan Galur Wistar	43
Grafik 3. Rerata Perubahan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Tua Jantan Galur Wistar	45
Grafik 4. Rerata Perubahan Kadar Serum IGF-1 Tikus Putih Tua Jantan Galur Wistar	48

LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Etik Penelitian	63
Lampiran 2. Tabel Konversi Dosis Hewan.....	64
Lampiran 3. Tabel Maksimum Larutan Sediaan Uji Untuk Hewan	65
Lampiran 4. Perhitungan Dosis Metformin	66
Lampiran 5. Komposisi Pakan.....	68
Lampiran 6. Kotak ELISA IGF-1	69
Lampiran 7. Data Hasil Penelitian.....	70
Lampiran 8. Uji Normalitas dan Uji Homogenitas.....	71
Lampiran 9. Uji Univariate MANOVA	72
Lampiran 10. Uji Post Hoc Duncan.....	75
Lampiran 11. Uji Korelasi Pearson	77
Lampiran 12. Uji Regresi Linear Berganda.....	78
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian	86

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penuaan (*aging*) merupakan suatu proses, dimana terjadi kehilangan kemampuan suatu jaringan untuk memperbaiki diri dan mempertahankan struktur serta fungsi normalnya. Hal ini merupakan proses alami yang dialami oleh setiap manusia dan tidak dapat dihindari serta bersifat progresif, yang berakibat memburuknya fungsi tubuh dan peningkatan morbiditas serta mortalitas.^{1,2,3}

Proses penuaan pada dasarnya adalah penyakit. Empat teori utama yang telah menjelaskan bagaimana proses penuaan itu sendiri. Teori-teori ini meliputi: peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan penurunan perbaikan DNA, peningkatan sirkulasi glukosa dan insulin, peningkatan sirkulasi hormon pertumbuhan (*Growth Hormon*) dan *Insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan Hipotesis Hormesis.⁴

Penuaan mengakibatkan adanya perubahan sistem endokrin yang ditandai dengan adanya kemunduran dalam pemeliharaan proses homeostatis dari waktu ke waktu, yang menyebabkan terjadinya penurunan fungsi berbagai organ secara bertahap dan peningkatan resiko penyakit serta kematian sel. Proses kematian sel secara metabolik ditandai oleh resistensi insulin, perubahan komposisi tubuh, peningkatan kadar glukosa dan penurunan fisiologis dari hormon pertumbuhan (GH) dan insulin-like factor-1 (IGF-1). Pada awal proses penuaan, sel pankreas memproduksi lebih banyak insylin untuk menjaga kadar glukosa darah tetap normal,

namun kondisi hiperglikemia yang terus menerus mengakibatkan terganggunya produksi insulin.²²

Kondisi lingkungan sekitar termasuk gaya hidup, sangat mempengaruhi laju dari penuaan. Contohnya, obesitas atau mengkonsumsi kalori yang berlebih telah dikaitkan sebagai patogenesis penyakit terkait usia (*aged-related disease*) seperti diabetes, penyakit kardiovaskular, stroke dan perkembangan kanker.^{4,5}

Beberapa dekade terakhir menunjukkan adanya kemajuan yang luar biasa dalam ilmu penuaan (*science of aging*), telah dilakukan banyak penelitian terhadap penyakit yang berkaitan dengan usia, dengan menggunakan penanda molekuler yang dapat membantu kita untuk memahami dasar biologi penuaan pada berbagai model organisme, yang nantinya akan dikembangkan sebagai strategi dalam menunda penuaan.^{6,7} Salah satu penelitian yang dikembangkan saat ini adalah Pembatasan Kalori (*Caloric Restriction*), dimana intervensi yang dilakukan membuktikan bahwa penuaan dan penyakit terkait usia dapat diperlambat.^{7,8} Pembatasan Kalori (*Caloric Restriction*) didefinisikan sebagai pengurangan asupan nutrisi sekitar 20-50% tanpa menyebabkan kekurangan gizi/malnutrition.^{8,12}

Pencarian senyawa yang dapat meniru manfaat dari segi kesehatan dan memberikan umur panjang seperti pada pembatasan kalori, tanpa harus mengurangi jumlah asupan kalori merupakan hal yang menarik dalam penelitian nutrisi saat ini. Obat-obatan atau senyawa tersebut dikenal sebagai restriksi kalori mimetik (*Calorie Restriction Mimetics* (CRM)), dimana senyawa ini berfungsi mencegah penyakit yang berkaitan dengan usia dan dapat membuat hidup lebih sehat dan memperpanjang usia.^{9,10}

Metformin merupakan salah satu kalori restriksi mimetik yang menarik bagi gerontologis. Metformin yang merupakan golongan biguanin yang digunakan sebagai obat diabetes tipe 2 yang efek utamanya menurunkan glukosa dengan menghambat proses glukoneogenesis di hati, yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan mengaktifkan AMPK (*Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase*) serta efek menguntungkan lainnya dalam aspek proses penuaan.¹⁰ Mekanisme aksi metformin belum teridentifikasi dengan jelas, namun dapat memberikan pengaruh yang berbeda pula tergantung pada cara dan dosis penggunaannya. Penggunaan metformin dapat dikaitkan dengan penurunan insiden dan mortalitas penyakit yang berhubungan dengan usia dan kanker. Mekanisme metformin sebagai antihiperlipemik dengan cara menekan oksidasi asam lemak hati, meningkatkan sensitivitas insulin, mengurangi penyerapan glukosa usus, mengurangi proses peradangan dan meningkatkan fosforilasi oksidatif mitokondria melalui jalur AMPK.^{21,22} Metformin bekerja di luar dan di dalam sel. Di luar sel, metformin telah terbukti mempengaruhi reseptor sitokin, insulin, IGF-1 dan adiponektin, yang mana semua jalur tersebut diaktifkan dengan proses penuaan dan ketika dimodulasi, memiliki hubungan dengan penambahan usia. Metformin juga bekerja di intraseluler, dengan menghambat jalur inflamasi dan mengaktifkan AMPK, Metformin meningkatkan rasio AMP ke ATP dengan menghambat kompleks mitokondria I, mengaktifkan jalur pensinyalan protein kinase teraktivasi adenosine monofosfat (AMPK) dan menekan jalur reseptor faktor pertumbuhan-1 (IGF-1R), meningkatkan penghambatan mTOR, yang merupakan target utama dalam memodulasi penuaan. Proses ini secara bersamaan mempengaruhi peradangan, kelangsungan hidup sel,

pertahanan stress, autofagi dan sintesis protein yang merupakan hasil biologis utama terkait dengan penuaan.²²

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa metformin menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi sel dengan berinteraksi dengan jalur *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1). *Insulin-like growth factor 1* adalah suatu hormon anabolik yang terdapat di hati. Hormon ini memainkan peranan penting dalam mengatur aktivitas biologis yang berkaitan dengan hormon pertumbuhan (*Growth Hormon*), seperti metabolisme insulin, proliferasi, diferensiasi dan apoptosis sel, yang terlibat dalam berbagai penyakit terkait usia.¹¹ Sekresi hormon pertumbuhan secara nyata menurun seiring dengan bertambahnya usia, mengakibatkan terjadinya penurunan konsentrasi IGF-1 secara bersamaan, konsentrasi IGF-1 yang rendah pada manusia telah dikaitkan dengan terjadinya peningkatan resiko Diabetes Mellitus Tipe 2, *Cardiovascular Disease*, Stroke, dan Osteoporosis.

Penelitian mengenai efek metformin terhadap kadar IGF-1 telah banyak dilakukan, akan tetapi adanya perbedaan dalam hasil kadar serum IGF-1 melalui pensinyalan reseptor insulin, dalam hal ini kaitannya dengan kadar glukosa darah yang menyebabkan proses penuaan. Oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh pemberian metformin sebagai restriksi kalori mimetik terhadap kadar glukosa darah dan kadar serum IGF-1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih tua jantan galur wistar, karena memiliki beberapa keuntungan yaitu ukurannya lebih besar dari mencit sehingga memudahkan pengamatan, mudah dipelihara dan karakter *fungsional* hewan pengerat ini mencerminkan sistem tubuh mamalia. Tikus putih yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan umur 12-18 bulan dan berat

250-300 gram. Pemilihan umur 12 bulan berdasarkan usia maksimal *strain* ini yaitu sampai 3 tahun (36 bulan). Proses penuaan dimulai pada usia 30 tahun pada manusia, maka proses penuaan pada tikus dimulai pada usia 1 tahun (12 bulan), pemilihan tikus putih jantan dilakukan karena tikus putih jantan tidak mengalami siklus estrus sehingga sampel menjadi homogen, mudah dikendalikan dan hasilnya diharapkan lebih akurat.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh pemberian metromin sebagai restriksi kalori mimetik terhadap kadar glukosa darah puasa pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar?
2. Bagaimana pengaruh pemberian metromin sebagai restriksi kalori mimetik terhadap kadar serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk menganalisis pengaruh pemberian metformin sebagai restriksi kalori mimetik terhadap kadar glukosa darah puasa dan kadar serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar?

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengukur kadar glukosa darah puasa dan serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan pemberian diet *ad libitum*.

- b. Untuk mengukur kadar glukosa darah puasa dan serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan pemberian restriksi kalori.
- c. Untuk mengukur kadar glukosa darah puasa dan serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan pemberian Metformin.
- d. Membandingkan kadar glukosa darah puasa dan serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar antara pemberian diet *ad libitum*, restriksi kalori dan pemberian metformin.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memperkaya khasanah ilmu pengetahuan atau bahan acuan dalam memahami pengaruh pemberian metformin sebagai restriksi kalori mimetik terhadap kadar glukosa darah puasa dan kadar serum IGF-1, yang erat hubungannya dengan metabolime tubuh yang berperan dalam proses penuaan.

1.4.2. Manfaat Praktis

Bagi peneliti lain: sebagai bahan referensi dan sumber bacaan untuk menambah wawasan dan pengetahuan pembaca tentang bagaimana peran metformin sebagai restriksi kalori mimetik dalam proses penuaan

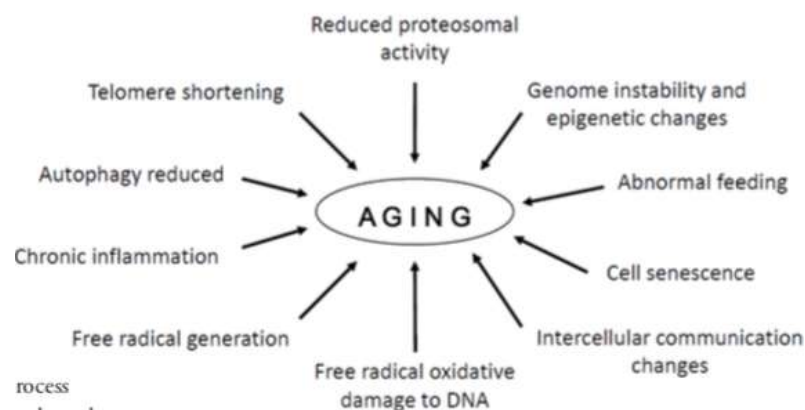
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penuaan

Penuaan (aging) merupakan suatu proses, dimana terjadi kehilangan kemampuan suatu jaringan untuk memperbaiki diri dan mempertahankan struktur serta fungsi normalnya. Hal ini merupakan proses alami yang dialami oleh setiap manusia dan tidak dapat dihindari serta bersifat progresif, yang berakibat memburuknya fungsi tubuh dan peningkatan morbiditas serta mortalitas.^{1,2} Sejak dahulu manusia selalu berusaha untuk memperpanjang umurnya, untuk itu manusia melakukan berbagai cara guna mencegah proses penuaan. Data Biro Pusat Statistik Indonesia tahun 1984 usia harapan hidup hanya 55,4 tahun, sedangkan pada tahun 2004 terjadi peningkatan menjadi 69 tahun.³

Usia manusia merupakan faktor resiko yang berkontribusi secara kuat dan *independent* dalam terjadinya patogenesis penyakit yang berkaitan dengan usia (*Aged-Related Disease*), seperti penyakit kardiovaskular, penyakit neurodegenerative, diabetes, dan kanker.⁴ Adapun ciri khas (*Hallmarks*) dari penuaan yang telah berhasil diidentifikasi adalah ketidakstabilan genom, perubahan epigenetic, hilangnya proteostasis, penginderaan nutrisi yang dideregulasi, disfungsi mitokondria, penuaan seluler, kelelahan sel punca dan perubahan komunikasi intraseluler, dimana hal ini mempunyai peran kausatif dalam peningkatan kerentanan penyakit terkait usia (*Aged-Related Diseases*).⁵



Gambar 1. Faktor yang berhubungan dengan terjadinya penyakit terkait usia (aged-related disease)²

Penuaan merupakan proses yang mempengaruhi organ-organ tertentu, yang dapat menyebabkan beberapa penyakit kronis. Beberapa tahun terakhir ini, telah dilakukan banyak penelitian terhadap penyakit yang berkaitan dengan usia, dengan menggunakan penanda molekuler yang dapat membantu kita untuk memahami dasar biologi penuaan, yang nantinya akan dikembangkan sebagai strategi dalam menunda penuaan.^{6,7}

2.2. Restriksi Kalori

Pembatasan Kalori (*Caloric Restriction*) didefinisikan sebagai pengurangan asupan nutrisi sekitar 20-50% tanpa menyebabkan kekurangan gizi/malnutrition.^{8,12} Dalam beberapa penelitian pada hewan, Restriksi kalori dikaitkan dengan peningkatan kesehatan, dapat memperpanjang usia, dapat mengurangi morbiditas dan mortalitas.^{8,13}

Penelitian intervensi yang menunjukkan perlambatan penuaan dan peningkatan kesehatan dan usia harapan hidup telah dikembangkan lebih dari 80 tahun yang lalu.¹² Beberapa penelitian berskala besar mengenai restriksi kalori memberikan pemahaman tentang perubahan fisiologis selama penuaan dan dampaknya terhadap kesehatan di usia tua.

Manipulasi nutrisi terbukti sangat kuat pada berbagai model penelitian hewan dan manusia, dalam melihat dampak pada kesehatan reproduksi, dan penuaan. Akan tetapi hubungan kompleks antara nutrisi dan kesehatan terkait usia belum sepenuhnya dipahami. Efek dari Restriksi Kalori terhadap memperpanjang usia diteliti di berbagai spesies dari organisme bersel tunggal seperti ragi hingga cacing, laba-laba, lalat, ikan, dan anjing.^{7,12,14,18,19}

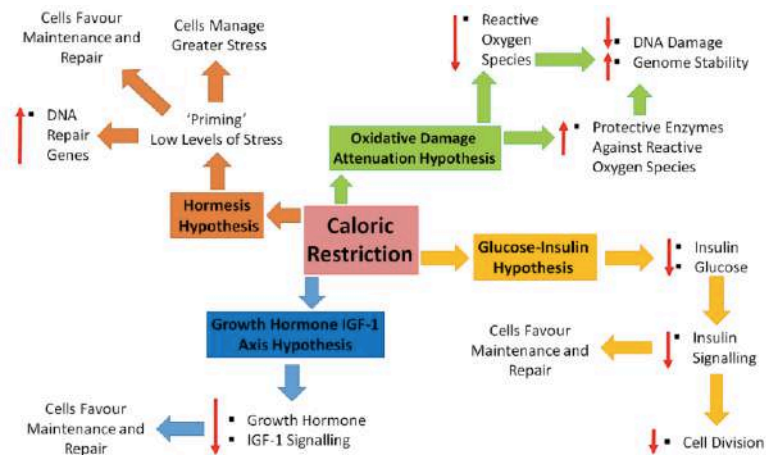


Gambar 2. Spesies organisme dalam penelitian terkait restriksi kalori¹⁴

Proses penuaan pada dasarnya adalah penyakit. Empat teori utama yang telah menjelaskan bagaimana proses penuaan itu sendiri. Teori-teori ini meliputi: peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan penurunan perbaikan DNA, peningkatan sirkulasi glukosa dan insulin, peningkatan sirkulasi hormon pertumbuhan (*Growth Hormon*) dan *Insulin-like growth factor-1* (IGF-1), dan Hipotesis Hormesis.⁴

Restriksi kalori pada manusia memiliki beberapa efek yang menguntungkan seperti terjadinya pengurangan berat badan, dapat mengontrol diabetes dan sensitivitas dari insulin, dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit jantung, fungsi kognitif dan pencegahan penyakit kanker. Akan tetapi restriksi kalori ini sangat sulit untuk dilakukan dan dapat meningkatkan resiko kekurangan gizi.^{8,13,15} Mekanisme restriksi kalori

dapat mempengaruhi beberapa jalur pensinyalan yang berkaitan dengan penuaan dan metabolisme, seperti sinyal IGF, mTOR, AMPK dan sitruin.¹⁶



Gambar 3. Restriksi Kalori dan Empat Hipotesis Penuaan

Manfaat lain dari restriksi kalori adalah peningkatan sensitivitas insulin, terlepas dari total asupan makanan dan kehilangan berat badan, peningkatan fungsi otak yang dibuktikan dengan perilaku kinerja yang lebih baik dalam menilai respons motorik, dan rangsangan sensorik.¹⁷



Gambar 4. Manfaat Restriksi Kalori¹⁴

Beberapa uji klinis restriksi kalori jangka pendek pada manusia dapat memberikan manfaat dalam hal penurunan berat badan dan kesehatan kardiometabolik, termasuk pengurangan berat badan dan peningkatan profil lipid, menurunkan tekanan darah dan sensitivitas insulin.¹⁷

2.3. Restriksi Kalori Mimetik

Restriksi kalori memberikan banyak manfaat, salah satunya memperpanjang usia, akan tetapi sangat sulit untuk melakukan restriksi kalori dalam jangka waktu yang lama.²⁰Oleh karena itu, pencarian senyawa yang dapat meniru manfaat dari segi kesehatan dan memberikan umur panjang seperti pada pembatasan kalori, tanpa harus mengurangi jumlah asupan kalori merupakan hal yang menarik dalam penelitian nutrisi saat ini. Obat-obatan atau senyawa tersebut dikenal sebagai restriksi kalori mimetik (*Calorie Restriction Mimetics* (CRM)), dimana senyawa ini berfungsi mencegah penyakit yang berkaitan dengan usia dan dapat membuat hidup lebih sehat dan memperpanjang usia.^{9,10}

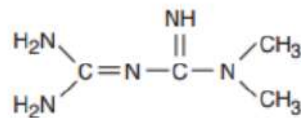
Terdapat 2 macam restriksi kalori mimetik yang telah diidentifikasi, yaitu tipe Downstream dan tipe Upstream. Tipe Downstream restriksi kalori mimetik berfungsi dalam sistem pensinyalan intraseluler dan memberikan efek yang sama dengan restriksi kalori, sedangkan tipe upstream restriksi kalori mimetik menggunakan mekanisme aksi yang mempunyai target pada sistem metabolisme energi, khususnya modulasi metabolisme glukosa dan mentransmisikan sinyal ke downstream untuk mendapatkan efek yang sama pada restriksi kalori.²⁰

Tabel 1. Tipe Downstream dan Upstream Restriksi Kalori Mimetik.²⁰

Compound	Mode of Action
Downstream Type of CRM	
Metformin (antidiabetic drug)	AMPK activation
Rapamycin (immunosuppressant drug)	mTOR inhibition
Resveratrol (food component)	Sirtuin activation
Polyamines (food component)	Epigenetic control
Oxaloacetic acid (dietary supplement)	Redox balance
Upstream Type of CRM	
Chitosan (dietary supplement)	Glucose diminution
Acarbose (antidiabetic drug)	Glycosidase inhibition
2-Deoxy-D-glucose (anticancer drug)	Glycolysis inhibition
D-Glucosamine (dietary supplement)	Glycolysis adjustment
D-Allulose (food component)	Glycolysis improvement
SGLT2 (antidiabetic drug)	Glucose excretion

2.3.1. Metformin

Metformin merupakan salah satu kalori restriksi mimetik yang menarik bagi gerontologis. Metformin yang merupakan golongan biguanin yang digunakan sebagai obat diabetes tipe 2.¹⁰ metformin bekerja dengan cara menurunkan produksi glukosa oleh hati, meningkatkan sensitifitas reseptor perifer, sehingga penggunaan glukosa darah lebih efektif. Metformin tidak mengakibatkan hipoglikemik karena tidak meningkatkan produksi sel beta pankreas.

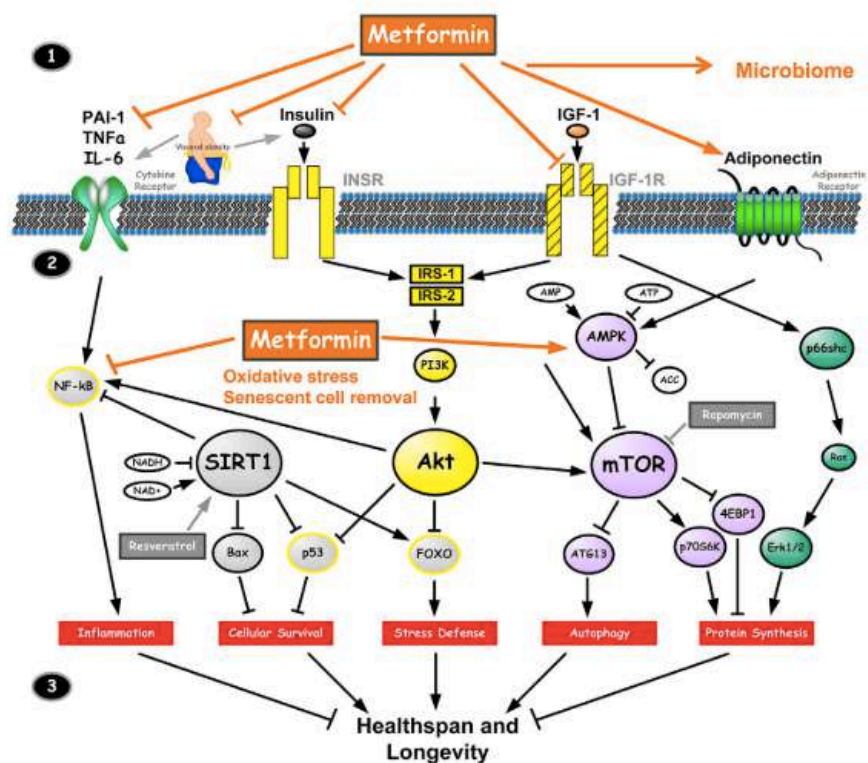


Gambar 5. Struktur Kimia Metformin

Metformin dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan mengaktifkan AMPK (*Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase*) serta efek menguntungkan lainnya dalam aspek proses penuaan.¹⁰ Penggunaan metformin dapat dikaitkan dengan penurunan insiden dan mortalitas penyakit yang berhubungan dengan usia, termasuk kanker, gangguan kognitif, penyakit kardiovaskular dan sindrom metabolik.^{10,21} Mekanisme metformin sebagai antihiperlikemik dengan cara menekan oksidasi asam lemak hati, meningkatkan sensitivitas insulin, mengurangi penyerapan glukosa usus, mengurangi proses peradangan dan meningkatkan fosforilasi oksidatif mitokondria melalui jalur AMPK.^{21,22}

Beberapa mekanisme relevan dalam metabolisme glukosa, dan berhubungan dengan penuaan, metformin menyebabkan penurunan kadar insulin, penurunan pensinyalan IGF-1, penghambatan mTOR, penghambatan kompleks mitokondria 1 dalam rantai transport electron dan pengurangan produksi endogen spesies oksigen reaktif (ROS), teraktivasinya AMPK, dan pengurangan kerusakan DNA. Metformin juga mempengaruhi proses metabolisme seluler yang berkaitan erat dengan penuaan, seperti peradangan (*inflammation*), autophagy dan *cellular senescence*.²²

Metformin telah terbukti mempengaruhi reseptor sitokin, insulin, IGF-1, dan adiponektin, semua jalur yang diaktifkan dengan penuaan, dan ketika dimodulasi akan dikaitkan dengan memperpanjang usia. Mekanisme metformin intraseluler adalah dengan cara menghambat jalur inflamasi dan mengaktifkan AMPK, meningkatkan penghambatan mTOR, yang merupakan target utama untuk memodulasi penuaan. Melalui beberapa mekanisme di atas, metformin juga memodulasi stress oksidatif dan menghilangkan sel-sel tua (melalui jalur mitokondria dan mekanisme yang dapat menginduksi sel senescence). Proses-proses tersebut akan mempengaruhi proses inflamasi, kelangsungan hidup sel (*cellular survival*), pertahanan terhadap stress (*stress defense*), *autophagy*, dan sintesis protein, yang merupakan hasil biologis utama yang terkait dengan penuaan atau umur yang panjang.²²



Gambar 6. Mekanisme Metformin pada Proses Penuaan²²

2.3.2. Rapamycin

Rapamycin adalah senyawa makrolida yang diproduksi oleh *Streptomyces hygroscopicus* pada tahun 1972. Senyawa ini berfungsi sebagai inhibitor mamalia target of rapamycin (mTOR), yang mempunyai pengaruh penting dalam proses proliferasi dan inflamasi.²⁰

Rapamycin merupakan salah satu restriksi kalori mimetik yang dalam beberapa penelitian dapat memberikan manfaat dalam memperpanjang usia. Menurut penelitian yang dilakukan, rapamycin memperpanjang umur rata-rata dan umur maksimum tikus yang berumur 20 bulan yang disertai dengan penurunan aktivitas TOR, akan tetapi rapamycin memiliki efek samping yaitu peningkatan kejadian diabetes.¹⁰

2.3.3. Resveratrol

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene), adalah polifenol terkenal yang biasa ditemukan dalam berbagai makanan, termasuk sejumlah buah beri, kacang, anggur dan anggur merah.^{4,10,20} Resveratrol dalam anggur merah telah dikaitkan dengan penurunan tingkat penyakit kardiovaskular dan mempunyai efek menguntungkan pada kanker, termasuk pencegahan karsinogenesis dan proliferasi sel kanker pada tikus. Penyakit kardiovaskular dan kanker merupakan penyakit yang berkaitan dengan usia, oleh karena itu resveratrol merupakan intervensi potensial yang memiliki banyak manfaat dalam bidang penuaan (*Aging*).⁴ Resveratrol merupakan salah satu restriksi kalori mimetik yang paling banyak dipelajari.¹⁰

Mekanisme resveratrol dalam memperpanjang masa hidup dianggap berpusat mengaktifkan sirtuin 1 atau homolog invertebrata.^{4,20} Resveratrol dikenal untuk melindungi organisme hidup terhadap ROS dan terbukti memberikan efek antioksidan dengan mengaktifkan SIRT2 untuk mendeasetilasi peroxiredoxin 1.²⁰

Beberapa penelitian mengenai efek resveratrol terhadap penyakit terkait usia, salah satunya adalah penelitian yang diberikan pada tikus gemuk yang diinduksi oleh diet tinggi lemak memiliki efek ekstensi pada umur rata-rata. Resveratrol juga mempertahankan indeks fungsi vaskular pada tikus normal, meskipun tanpa memperpanjang umur. Dalam studi klinis, asupan resveratrol meningkatkan kapasitas memori subyek usia lanjut

dan meningkatkan kadar lipid darah dan kontrol glukosa pada subjek diabetes obesitas dan dewasa. Namun, dalam satu studi, resveratrol meningkatkan fungsi vaskular, terutama pada orang tua, tetapi tidak meningkatkan metabolisme glukosa.²⁰

2.4. *Insulin-like growth factor-1 (IGF-1)*

Di antara hipotesis yang menjelaskan mengenai penuaan, beberapa penelitian menunjukkan adanya perubahan dalam sistem pensinyalan reseptor insulin-IGF-1 dapat memodulasi proses penuaan.⁷ *Insulin-like Growth Factor 1* merupakan suatu polipeptida alamiah pada tubuh manusia yang mempunyai kemiripan dengan insulin. Insulin-like Growth Factor-1 terdiri dari suatu rantai polipeptida tunggal yang mempunyai 3 rantai disulfida sebagai jembatan antar molekul. Insulin-like Growth Factor-1 terdiri dari 70 residu asam amino dengan berat molekul 7.649 Dalton. Insulin-like Growth Factor-1 sendiri merupakan bagian dari suatu kompleks sistem yang disebut sebagai IGF axis.²³

Kadar normal IGF-1 dalam serum merupakan penanda bahwa kadar GH dalam darah adalah normal dan sebaliknya.²⁴ Insulin-like Growth Factor-1 diproduksi di hepar dengan regulasi oleh GH. Growth Hormon menstimulasi sintesis IGF-1 di hepar dan juga sebaliknya kadar IGF-1 akan memerlukan respon balik terhadap produksi GH di hipofisis. Beberapa penelitian menunjukkan adanya korelasi antara kadar IGF-1 dengan kadar insulin darah.^{11,25}

Insulin-like Growth Factor-1 berperan penting dalam hal merangsang proliferasi sel dan inhibisi apoptosis. Hal ini mempengaruhi regulasi dari pertumbuhan fisiologis tubuh maupun pertumbuhan patologis seperti

kanker. Insulin-like Growth Factor-2 merupakan bagian dari axis IGF/GH. Insulin-like Growth Factor-2 mempunyai peranan sebagai faktor pertumbuhan pada masa fetal menunggu maksimalnya produksi IGF-1. Beberapa faktor lain yang terlibat dalam aksi ini adalah GH, faktor genetik, umur, level stres, kadar nutrisi, ras, status estrogen dan variasi waktu harian.²³

2.5. Glukosa Darah

Glukosa merupakan suatu monosakarida aldoheksosa yang digunakan sebagai sumber energi utama makhluk hidup. Glukosa merupakan produk terakhir dari metabolisme karbohidrat. Glukosa yang berlebihan akan diubah menjadi glikogen lalu akan tersimpan dalam hati dan otot.²⁶ Karbohidrat terbanyak pada makanan merupakan polisakarida yang tidak dapat dicerna oleh manusia. Karbohidrat dapat dimetabolisme melalui beberapa jalur diantaranya adalah: (1) glikolisis, (2) glikogenesis, (3) glikogenolisis dan (4) glukoneogenesis. Glikolisis merupakan pemecahan glukosa menjadi asam piruvat atau asam laktat. Jalur glikolisis banyak terjadi di dalam otot bergaris karena untuk menghasilkan Adenosin Trifosfat (ATP). Glikolisis yang terjadi dalam suasana anaerobik akan menghasilkan asam laktat dan menghasilkan dua energi ATP. Reaksi glikolisis memerlukan katalase dari enzim hexokinase dan glukokinase yang akan mengkatalisis glukosa menjadi glukosa 6-fosfat. Selanjutnya glukosa 6-fosfat akan diubah menjadi fruktosa 6-fosfat menggunakan enzim fosfoheksosa isomerase. Glikogenesis terjadi pada semua jaringan terutama pada hepar dan otot sedangkan glikogenolisis merupakan pemecahan glikogen yang terdapat pada hepar dan otot.²⁷

Glukosa juga dapat dibentuk melalui jalur glukoneogenesis yaitu suatu proses perubahan prekursor nonkarbohidrat yang substrat utamanya adalah asam-asam amino glukogenik, laktat, gliserol, dan propionate. Asam laktat dan asam amino akan dikonversi menjadi asam piruvat kemudian disintesis menjadi glukosa atau dapat memasuki siklus krebs, sedangkan gliserol akan dikonversi menjadi glyceraldehyde 3-phosphate yang bisa digunakan untuk membentuk asam piruvat atau mensintesis glukosa. Glukosa yang dihasilkan selanjutnya dibawa ke hati melalui sistem vena porta hepatica. Glukosa memiliki 5 pengangkut utama berupa Glucose Transporter (GLUT) yaitu GLUT 1 (otak, ginjal, kolon, plasenta dan eritrosit), GLUT 2 (hati, sel beta pankreas, usus halus dan ginjal), GLUT 3 (otak, ginjal dan plasenta), GLUT 4 (otot jantung dan rangka, jaringan adiposa) dan GLUT 5 (usus halus), tiap GLUT berfungsi sebagai penyerapan glukosa pada masing-masing organ.²⁷

Glukosa dapat dipengaruhi oleh hormon, salah satu diantaranya yaitu hormon kortisol. Efek metabolik kortisol meliputi peningkatan konsentrasi glukosa darah dengan mengorbankan simpanan lemak dan protein. Kortisol akan meningkatkan glukoneogenesis di hati sehingga glikogen (glukosa simpanan yang ada pada hati) akan dibebaskan ke dalam darah. Efek lainnya yaitu kortisol menghambat penyerapan dan pemakaian glukosa oleh banyak jaringan kecuali otak, sehingga glukosa yang ada pada darah akan meningkat. Kortisol juga akan merangsang penguraian protein di banyak jaringan, khususnya otot. Protein diuraikan menjadi asam amino, sehingga asam amino darah akan meningkat dan asam amino juga merupakan bahan yang akan disintesis menjadi glukosa pada glukoneogenesis. Lipolisis juga merupakan efek metabolik kortisol, yaitu

penguraian simpanan lemak (lipid) di jaringan adiposa sehingga asam-asam lemak dibebaskan ke dalam darah. Asam-asam lemak ini dapat digunakan sebagai pengganti glukosa.²⁸ Glukosa darah juga dapat dipengaruhi oleh paparan gelombang elektromagnetik ponsel. Penelitian menyebutkan bahwa pemberian paparan 15 – 30 menit/hari, 31-45 menit/hari, dan 46-60 menit/ hari akan meningkatkan glukosa darah akibat stres oksidatif. Stres oksidatif tersebut akan menyebabkan disfungsi sel beta pankreas melalui apoptosis sehingga insulin yang dihasilkan tidak maksimal dan glukosa darah tetap meningkat.²⁷

2.6. Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar

Hewan percobaan atau hewan laboratorium telah banyak digunakan dalam penelitian selama beberapa tahun lamanya. Selain digunakan untuk mengetahui prinsip-prinsip dasar kehidupan, hewan coba juga digunakan dalam beberapa penelitian eksperimental di bidang biomedik, terutama untuk kajian imunologi, onkologi, fisiologi, patologi, toksikologi, farmakologi dan neurosains.^{29,30}



Gambar 7. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar

Tikus putih merupakan hewan percobaan yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis, pengujian, dan pendidikan. Hal ini dikarenakan hewan pengerat ini memiliki kelebihan sebagai model yang mencerminkan karakter fungsional dari sistem tubuh mamalia.³⁰ Tikus putih memiliki banyak keunggulan sebagai hewan laboratorium seperti berkembangbiakan yang cepat, ukuran yang lebih besar dari mencit sehingga memudahkan pengamatan, dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak.³¹ Adapun klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:³¹

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Subphylum : Vertebrata
Class : Mammalia
Ordo : Rodentia
Family : Muridae
Genus : Rattus
Species : *Rattus norvegicus*

Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian, antara lain *Wistar*, *Sprague-Dawley*, *Osborne-Mendel*, *Long-Evans*, *Holtzman*, *Slonaker*, dan *Albany*. Akan tetapi, galur tikus yang paling banyak digunakan untuk eksperimen di Laboratorium adalah *Wistar* dan *Sprague-Dawley*, terutama pada pengelolaan kesehatan gigi, obesitas, diabetes mellitus, hipertensi dan mempelajari hubungan antara nutrisi dengan penuaan dini.^{31,32} Penelitian ini akan menggunakan galur *Wistar*

dengan ciri-ciri berwarna putih, berkepala besar dan ekornya lebih pendek daripada badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, dan tahan terhadap perlakuan.^{29,33} Biasanya pada umur empat minggu tikus putih mencapai berat 35-40 gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram, dimana berat badan jantan lebih tinggi dibandingkan berat badan betina, dan akan bertambah seiring dengan pertambahan usia.³⁴ Adapun data fisiologis tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai berikut:³¹

Tabel 2.Data Fisiologis Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Kriteria	Nilai
Berat badan dewasa	Jantan : 300 – 400 gram Betina : 250 – 300 gram
Kebutuhan makan	5 – 10 gr/100gr berat badan
Kebutuhan minum	10 ml/100gr berat badan
Lama Hidup	3 – 4 tahun
Detak Jantung	250 – 450 kali/menit
Tekanan Darah	
Sistol	84 – 134 mmHg
Diastol	60 mmHg
Laju pernapasan	70 – 115 kali/penit
Serum protein (g/dl)	5,6 – 7,6
Albumin (g/dl)	3,8 – 4,8
Globulin (g/dl)	1,8 – 3
Glukosa (mg/dl)	50 – 135

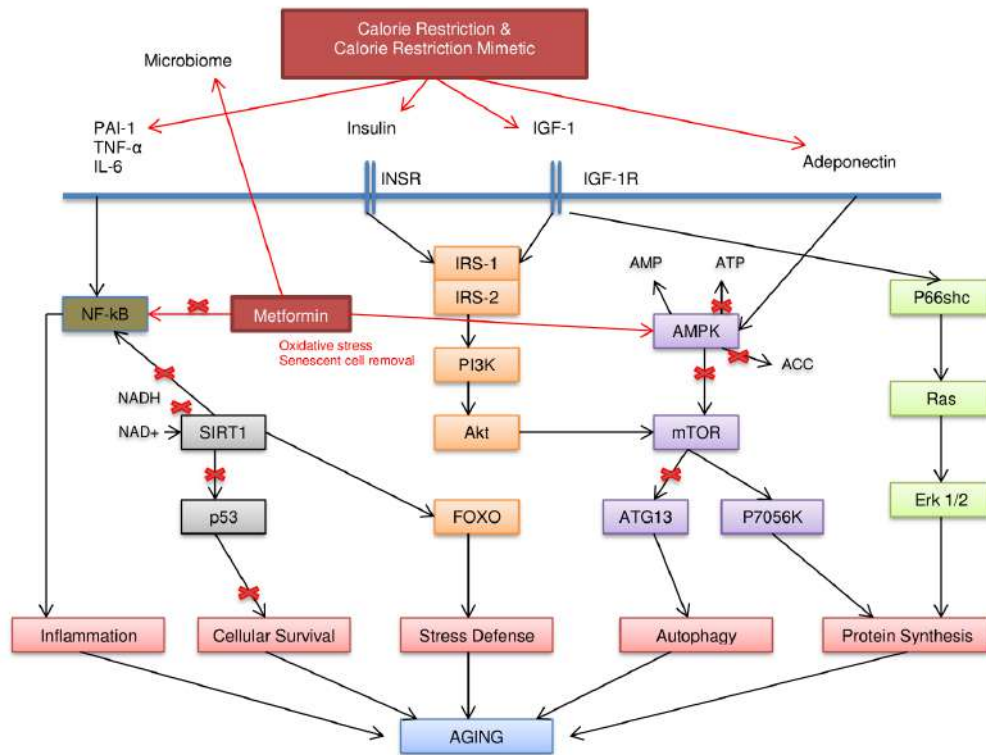
Penelitian mengenai penuaan dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba telah banyak dilakukan. Tikus putih ini menggantikan manusia sebagai objek eksperimen dalam penelitian ilmiah, dalam melakukan persiapan dan pengendalian kualitas suatu obat ataupun intervensi yang dilakukan. Adapun perbandingan usia relative pada tikus dengan usia manusia, sebagai berikut:³²

Tabel 3. Perbandingan usia relative tikus dengan usia manusia³²

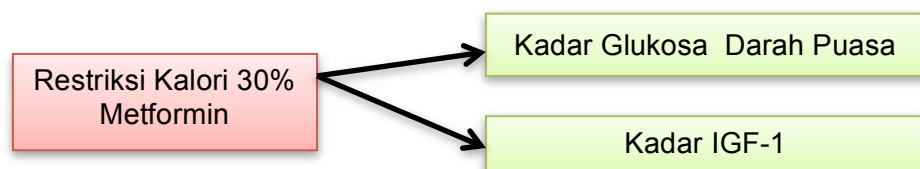
Usia Tikus (Bulan)	Usia Tikus (Tahun)	Usia Manusia (Tahun)
1,5 Bulan (Pubertas)	0,125 Tahun	12,5 Tahun
6 Bulan (<i>Social maturity</i>)	0,5 Tahun	18 Tahun
12 Bulan	1 Tahun	30 Tahun
18 Bulan	1,5 Tahun	45 Tahun
24 Bulan	2 Tahun	60 Tahun
30 Bulan	2,5 Tahun	75 Tahun
36 Bulan	3 Tahun	90 Tahun
42 Bulan	3,5 Tahun	105 Tahun
45 Bulan	3,75 Tahun	113 Tahun
48 Bulan	4 Tahun	120 Tahun

Tikus laboratorium memiliki rata-rata harapan hidup sekitar 3 – 4 tahun, sedangkan tikus domestic memiliki harapan hidup antara 2 sampai 3,5 tahun, sementara manusia memiliki harapan hidup sekitar 70 tahun. Tikus menjadi dewasa secara seksual pada usia 6 minggu, tetapi mencapai kematangan sosial sekitar usia 5-6 bulan. Tikus betina memasuki masa menopause antara usia 15 sampai 18 bulan, sementara manusia memasuki masa menopause antara 48 sampai 55 tahun.³² Penelitian mengenai penuaan dengan menggunakan intervensi yang membutuhkan perlakuan puasa, maka tikus cukup dipuaskan selama 6-8 jam. Hal ini dikarenakan, jika tikus atau mencit dipuaskan 17-20 jam (*overnight*) maka akan terjadi peningkatan jumlah eritrosit, hemoglobin, dan hematocrit, sebaliknya terjadi penurunan jumlah leukosit, yang nantinya akan mempengaruhi hasil penelitian.³⁴

2.7. Kerangka Teori



2.8. Kerangka Konsep



Keterangan :

- : Variabel Independent
- : Variabel Dependent

2.9. Hipotesis Penelitian

1. Metformin dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar
2. Metformin dapat meningkatkan kadar serum IGF-1 pada tikus putih tua jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar