

TESIS

EFEKTIVITAS GLUTATION TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR NF- κ B PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) HIPERGLIKEMIK

*EFFECTIVENESS OF GLUTATION ON BLOOD GLUCOSE LEVELS AND NF- κ B LEVELS IN HYPERGLICEMIC RATS (*Rattus norvegicus*)*



NINA NISRINA

P062211032

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



Optimization Software:
www.balesio.com

**EFEKTIVITAS GLUTATION TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH
DAN KADAR Nf- κ B PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
HIPERGLIKEMIK**

TESIS

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

**NINA NISRINA NASIR
P062211032**

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**




DAFTAR PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Efektivitas Glutathione Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kadar NF- κ B pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemik" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing dr. Arif Santoso., Sp.P.,Ph.D.,FAPSR, sebagai Pembimbing Utama dan Dr. dr. Endy Adnan, Sp.PD-KR., sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal Community Practitioner, Vol. 21 Number 05, DOI: 10.5281/zenodo.11392709 sebagai artikel dengan judul "Effectiveness of Glutathione on Blood Glucose and Serum Nuclear Factor Kappa Beta (NF- κ B) Levels in Rats (*Rattus norvegicus*) Type 2 Diabetes Mellitus". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 07 Agustus 2024

Yang menyatakan,


Nina Nisrina Nasir



TESIS
EFEKTIVITAS GLUTATION TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH
DAN KADAR NF- κ B PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) HIPERGLIKEMIK

NINA NISRINA NASIR
P062211032

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal
07 Agustus 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada
Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Sekolah Pasca Sarjana
Universitas Hasanuddin
Makassar

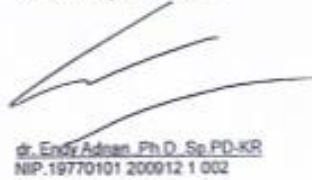
Mengesahkan:

Pembimbing Utama,



dr. Anil Santoso, Sp.P(K), Ph.D., FAPSR
NIP. 19770715 200604 1 012

Pembimbing Pendamping,



dr. Endy Adnan, Ph.D., Sp.PD-KR
NIP.19770101 200912 1 002

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik,



Prof. dr. Bahriawati, Ph.D., Sp.PD-KHOM, FINASIM
NIP 19680216 199603 2 002

Dekan Fakultas/Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,



Prof. dr. Budi, Ph.D., Sp.MYO, M.Med.Ed
NIP 19681231 199503 1 009



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Puji Syukur kehadirat Allah SWT., yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas limpahan berkat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul **“EFEKTIVITAS GLUTATION TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR NF-kB PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) HIPERGLIKEMIK”** yang sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan studi di Program Studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan kritikan yang membangun dari segala pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih yang tulus kepada **dr. Arif Santoso, Sp.P(K), Ph.D., FAPSR**, selaku Pembimbing Utama dan **Dr. dr. Endy Adnan, Sp.PD-KR** selaku Pembimbing Damping, serta kepada Tim Penguji tesis saya **dr. Muhammad Husni Cangara., Ph.D., Sp.PA., DFM., dr. Firdaus Hamid, Ph.D., Sp.MK., dan dr. Aminuddin., M.Nut & Diet., Ph.D.**, yang telah memberi kesediaan waktu, saran serta bimbingan sejak masa perkuliahan hingga penyusunan hasil penelitian ini.

Kepala Dokter Hewan, dan Laboran Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Hasanuddin yang sudah banyak membantu dalam proses penelitian Tesis ini. Penulis juga ucapkan terima kasih kepada Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua atas kesabaran dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis. Terima kasih atas kepercayaan dan pengorbanan yang telah diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan. Dan terakhir kepada teman – teman S2 Ilmu Biomedik angkatan 2021, yang saya banggakan atas semua ilmu dan bantuannya selama proses perkuliahan. Demikianlah dari penulis, mohon maaf dan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Semoga Allah Subhanahu wata'ala senantiasa membalas kebaikan kalian semua dan semoga tesis ini dapa bermanfaat bagi kita semua. Aamiin

Penulis,

Nina Nisrina N





ABSTRAK

NINA NISRINA NASIR. Efektivitas Glutation Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kadar Nf-K β Serum pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Hiperglikemik (dibimbing oleh **Arif Santoso** dan **Endy Adnan**).

Penyakit yang ditandai dengan terjadinya peningkatan kadar glukosa dalam darah disebut dengan hiperglikemia yang mempunyai efek pada endotel pembuluh darah yaitu autooksidasi glukosa dalam membentuk radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektifitas *glutathione*(GSH) terhadap kadar glukosa darah (GDS) dan *Nuclear Factor Kappa Beta* (Nf-k β) pada tikus (*Rattus Norvegicus*) hiperglikemik diinduksi oleh streptozotocin (STZ). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *pre-post test control group design*. Sampel 25 tikus dibagi dalam lima kelompok: kontrol normal (aquades), kontrol negatif (STZ+aquades), kontrol positif (STZ+metformin), KP-1 (STZ+GSH), KP-2 (STZ+GSH+metformin). Pemeriksaan kadar GDS menggunakan glukometer dan Nf-k β menggunakan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Data dianalisis menggunakan uji sample paired T-test dan ANOVA. Hasil uji kontrol positif metformin (K+), KP-1 dan KP-2 mengalami penurunan kadar GDS signifikan ($p < 0.05$), sedangkan kelompok normal (KN) dan kontrol negatif STZ (K-) tidak mengalami perubahan yang signifikan ($p > 0.05$). Perubahan GDS setelah perlakuan diperoleh K+ mengalami penurunan GDS signifikan dan paling tinggi, kemudian KP-2 dan KP-2. Sedangkan KN dan K- tidak signifikan. Uji kadar Nf-k β menunjukkan K+ dan KP-2 mengalami penurunan kadar namun tidak signifikan. Sedangkan N, K- dan KP-1 mengalami peningkatan kadar, namun hanya STZ yang signifikan. Perubahan kadar Nf-k β setelah perlakuan menunjukkan hanya KP-2 mengalami penurunan signifikan. Disimpulkan bahwa glutathione mampu memperbaiki kadar GDS, namun untuk kadar Nf-k β diperlukan tambahan obat standar agar efektif.

Kata Kunci : Glutation, *Nuclear Factor Kappa Beta* (Nf-k β) Serum, Hiperglikemik



	
GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris,
Tanggal : _____	


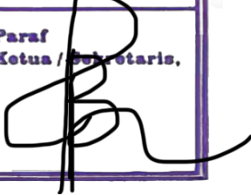
ABSTRACT

NINA NISRINA NASIR. Effectiveness of Glutathione on Blood Glucose Levels and Serum Nf-K β Levels in Hyperglycemic Rats (*Rattus Norvegicus*) (supervised by **Arif Santoso** and **Endy Adnan**).

A disease characterized by an increase in glucose levels in the blood is called hyperglycemia has an effect on the vascular endothelium of glucose autooxidation process in forming free radicals. This study aims to assess effectiveness of glutathione (GSH) on the improvement of blood glucose levels (GDS) and Nuclear Factor Kappa Beta (Nf-k β) in hyperglycemic rats (*Rattus Norvegicus*) induced by streptozotocin (STZ). This study was conducted using a pre-post-test control group design. A sample of 25 rats was divided into five groups: normal control (distilled water), negative control (STZ+distilled water), positive control (STZ+metformin), KP-1 (STZ+GSH), KP-2 (STZ+GSH+metformin). Examination of GDS levels using glucometer and Nf-k β using ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Data were analyzed using the sample paired T-test and ANOVA. The test results obtained positive control metformin (K+), KP-1, and KP-2 experienced a significant decrease in GDS levels ($p < 0.05$), while the normal group (KN) and negative control STZ (K-) did not experience significant changes ($p > 0.05$). Changes in GDS after treatment obtained K+ showed a significant and highest decrease in GDS, followed by KP-1 and KP-2. At the same time, KN and K- were not significant. The Nf-k β level test showed that K+ and KP-2 experienced a decrease in levels but not significant. While N, K- and KP-1 experienced increased levels, only STZ was significant. Changes in Nf-k β levels after treatment showed that only KP-2 had a significant decrease. It is concluded that glutathione is able to improve GDS levels, but for Nf-k β level, additional standard drugs are needed to be effective.

Keywords: Glutathione, Nuclear Factor Kappa Beta (Nf-k β) Serum, Hyperglycemia



	
GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPEL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
UCAPAN TERIMAH KASIH	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Novelty Penelitian	5
1.6 Kerangka Teori	10
1.7 Kerangka Konsep	11
1.8 Hipotesis	11
1.9 Definisi Operasional	12
BAB II METODE PENELITIAN	13
2.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	13
2.2 Desain Penelitian	13
2.3 Populasi dan Sampel Penelitian	14
2.4 Alat dan Bahan	15
2.5 Prosedur Penelitian	15
2.6 Kurang Penelitian.....	19



2.7 Analisis Data	19
2.8 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik	20
BAB III HASIL	21
3.1 Kadar Glukosa Darah Tikus.....	21
3.2 Kadar Nf-Kb Serum Tikus.....	24
BAB IV PEMBAHASAN.....	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	40



DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1	Perubahan GDS Setekah Intervensi Streptozotocin----- 21
Tabel 2	Kadar GDS Sebelum dan Sesudah Perlakuan ----- 22
Tabel 3	Perubahan Nilai Kadar GDS ----- 23
Tabel 4	Kadar Nf-k β Serum Sebelum dan Sesudah Perlakuan ---- 24
Tabel 5	Perubahan Nilai Kadar Nf-k β Serum ----- 25



DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2-----	2
Gambar 2 Kerangka Teori Penelitian -----	10
Gambar 3 Kerangka Konsep Penelitian -----	11
Gambar 4 Alur Kerja Penelitian-----	13
Gambar 5 Skema Rancangan Penelitian -----	19
Gambar 6 Perubahan Kadar GDS Setelah Intervensi <i>Streptozotocin</i> Selama 3 Hari-----	21
Gambar 7 Diagram rerata Sebelum dan Sesudah Perlakuan Setiap Kelompok -----	22
Gambar 8 Perubahan Kadar GDS -----	23
Gambar 9 Diagram Rerata Kadar Nf-k β Serum Sebelum dan Sesudah Perlakuan -----	24
Gambar 10 Perubahan Kadar Kadar Nf-k β Serum Selama 14 Hari-----	25



DAFTAR SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan Keterangan
ADA	American Diabetes Association
AGEs	Advanced Glycosylation end-products
DM	Diabetes Melitus
DNA	Deoksiribionukleat Acid
eNOS	<i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
GAD	<i>Glutamic decarboxylase auto antibody</i>
GAPDH	<i>Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>
GDPT	Glukosa darah puasa terganggu
GSH	<i>Glutathione</i> /glutation
GSH-PX	Glutation peroksidase
HbA1c	Hemogloin A1c
HIS	<i>Hyperosmolar hyperglycemic state</i>
IAA	<i>Insulin auto-antibody</i>
ICA	<i>Islet cell auto-antibody</i>
IDF	International Diabetes Federation
iNOS	<i>Nitric oxide synthase</i>
KAD	Ketosiadosis diabetik
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
MAP	<i>Mitogen-activated protein</i>
MET	Metformin
mg/dL	Miligram per desiliter
NADPH	Nicotinamide adenine phosphate dehydrogenase
Nf-k β	Nuklear Faktor Kappa B
NO	<i>Nitric oxide</i>
PAPR	Polinuklear polimerase
PKC	Protein Kinase C
RNS	<i>Reactive nitrogen species</i>
ROS	<i>Reactive oxigen species</i>
STZ	<i>Streptozotocin</i>
TGT	Tes glukosa terganggu
TTGO	Tes toleransi glukosa oral
WHO	World Health Organization



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah, yang dari waktu ke waktu dapat menyebabkan kerusakan pada jantung, pembuluh darah, mata, ginjal, dan saraf (*World Health Organization.*, 2022).

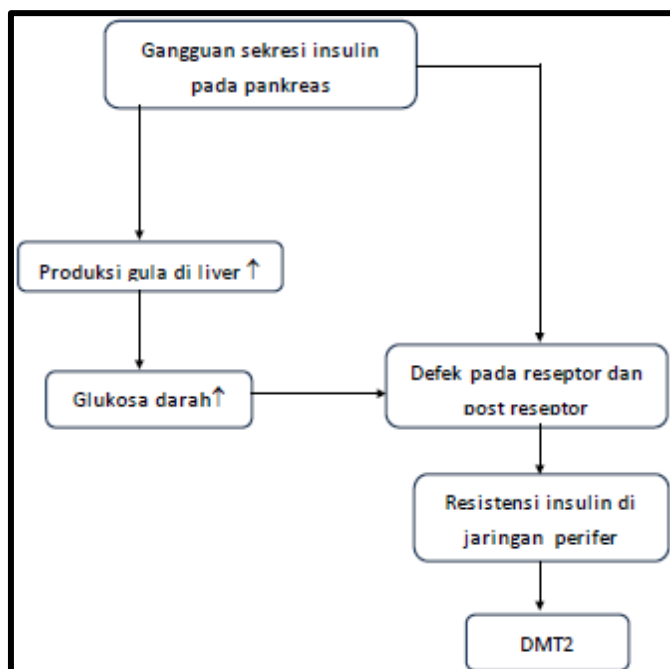
Banyak faktor yang dapat terlibat dalam proses yang berhubungan dengan resistensi insulin, termasuk gaya hidup seperti obesitas, kurangnya olahraga, peningkatan diet tinggi lemak dan kurang serat, usia, serta faktor genetik (Ozougwu JC, et al. 2013).

Stres oksidatif merupakan kondisi yang disebabkan oleh adanya peningkatan produksi radikal bebas atau berkurangnya aktivitas pertahanan antioksidan atau keduanya. Dalam kaitan dengan kondisi ini dikenal dengan istilah *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) (Oyenihi AB, et al. 2015). Senyawa tersebut ada yang bersifat radikal bebas dan ada yang dikatakan sebagai senyawa non-radikal. Disebut dengan radikal bebas apabila terdiri dari molekul yang tidak stabil dan bersifat reaktif sehingga dapat menyerang makromolekul lain seperti lipid, karbohidrat, protein dan asam nukleat. Hal ini mengakibatkan stres oksidatif dalam spektrum luas baik dalam mekanisme molekuler maupun seluler dari berbagai penyakit yang ditemukan pada manusia (Bajaj S dan Khan A. 2012).

Kondisi hiperglikemia yang terjadi di dalam sel tersebut akan merangsang over produksi superoksida pada mitokondria dan overproduksi *nitric oxide* (NO), dimana keduanya dapat menginduksi *nitric oxide synthase* (iNOS) dan *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS). Protein kinase C (PKC) and NF- κ B juga diaktifasi dan mendukung overekspresi dari enzim NAD(P)H. Selanjutnya, NAD(P)H akan menghasilkan sejumlah besar superoksida. Produksi superoksida berlebih yang disertai dengan peningkatan NO akan mendukung terbentuknya oksidan peroksinitrit yang kuat, yang dapat merusak DNA. Adanya kerusakan pada DNA ini selanjutnya akan menstimulus aktivasi dari enzim polinuklear polimerase (PARP) sehingga terjadi penurunan aktifitas *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (GAPDH) dan menghasilkan disfungsi endotel yang pada gilirannya akan menyebabkan komplikasi pada diabetes melitus (Ceriello A dan Testa R. 2009).

Hiperglikemia telah dikaitkan dengan pengaktifan jalur biokimia tambahan, termasuk jalur pensinyalan stres yang diaktifkan dari faktor-faktor *Nuclear Factor-kappa B* (NF- κ B), NH-genminal kinase/protein kinase aktif yang diaktifkan (JNK/SAPK), *mitogen-activated protein* (MAP) kinase, dan *hexosamine* (Barnes et al., 1997). Patofisiologi kejadian DM dapat dilihat pada gambar 1 berikut.





Gambar 1. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2 (Ozougwu JC et al. 2013)

Glukosa merupakan karbohidrat terpenting bagi tubuh karena glukosa bertindak sebagai bahan bakar metabolik utama. Glukosa juga berfungsi sebagai prekursor untuk sintesis karbohidrat lain, misalnya glikogen, galaktosa, ribosa, dan deoksiribosa. Glukosa merupakan produk akhir terbanyak dari metabolisme karbohidrat. Sebagian besar karbohidrat diabsorpsi ke dalam darah dalam bentuk glukosa, sedangkan monosakarida lain seperti fruktosa dan galaktosa akan diubah menjadi glukosa di dalam hati. Karena itu, glukosa merupakan monosakarida terbanyak di dalam darah (Murray, Granner, dan Rodwell, 2009).

Selain berasal dari makanan, glukosa dalam darah juga berasal dari proses glukoneogenesis dan glikogenolisis (Kronenberg et al., 2008). Kadar glukosa darah diatur sedemikian rupa agar dapat memenuhi kebutuhan tubuh. Dalam keadaan absorptif, sumber energi utama adalah glukosa. Glukosa yang berlebih akan disimpan dalam bentuk glikogen atau trigliserida. Dalam keadaan pasca-absorptif, glukosa harus dihemat untuk digunakan oleh otak dan sel darah merah yang sangat bergantung pada glukosa. Jaringan lain yang dapat menggunakan bahan bakar selain glukosa akan menggunakan bahan bakar alternatif (Sherwood, 2011).

Peningkatan glukosa darah akan sejalan dengan proses pencernaan karbohidrat, akan terjadi perangsangan terhadap sekresi insulin. Sebaliknya, peningkatan glukosa darah akan menghambat sekresi glukagon. Perbedaan kadar hormon insulin dan glukagon akan mempengaruhi kadar glukosa darah. Insulin dan glukagon akan mengatur homeostatis darah (Martini, 2012).

Faktor yang mempengaruhi kadar glukosa darah meliputi aspek-aspek genetik, lingkungan, dan gaya hidup. Faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi risiko diabetes. Faktor genetik memainkan peran penting dalam predisposisi diabetes, dengan risiko meningkat jika ada riwayat



keluarga. Infeksi virus dan bakteri, seperti rubela, mumps, dan *Human Coxsackievirus B4*, dapat merusak sel beta pankreas melalui mekanisme sitolitik dan autoimun, sehingga berpotensi memicu diabetes. Konsumsi berlebihan karbohidrat dan gula, serta kualitas tidur yang buruk, dapat mengganggu metabolisme glukosa dan meningkatkan risiko diabetes. Gaya hidup sedentari dan paparan nikotin serta alkohol juga terkait dengan peningkatan risiko diabetes. Selain itu, kekurangan vitamin D dan stres kronis dapat memengaruhi regulasi gula darah, sedangkan obesitas merupakan faktor risiko utama diabetes (Santosa, 2014; Rizki Uswatun Kasana, 2017)

Nuclear Factor Kappa Beta merupakan protein yang berada dalam sitoplasma yang mempunyai peran penting dalam regulasi seluler di dalam tubuh. Regulasi seluler tersebut seperti imun, respon inflamasi, stress oksidatif, sitokin, radiasi ultraviolet, *Low Density Lipoprotein* (LDL) teroksidasi, proses perkembangan bakteri dan virus, proliferasi sel, diferensiasi sel, apoptosis serta radikal bebas (Hayden, 2006).

Peroksidasi lipid terjadi akibat serangan radikal bebas pada asam lemak tak jenuh dan kolesterol yang terdapat dalam membran sel dan lipoprotein. NF- κ B berperan dalam menginduksi transkripsi gen-gen inflamasi, termasuk sitokin dan radikal bebas (Epstein, 1997). Ketidakseimbangan antara peroksidasi lipid dan kapasitas antioksidan yang tersedia dapat mengakibatkan disfungsi endotel (Pireira et al., 2006). Aktivitas NF- κ B turut menginduksi disfungsi sel beta pankreas, yang pada gilirannya memicu apoptosis progresif pada sel-sel tersebut (Patel et al., 2009). Dalam konteks diabetes melitus tipe 2, terdapat bukti bahwa aktivasi jalur pensinyalan terkait stres, seperti NF- κ B, p38 MAPK, JNK/SAPK, dan heksosamin, berkontribusi pada resistensi insulin serta gangguan sekresi insulin dengan meningkatkan kadar glukosa dan asam lemak bebas (FFA), yang pada akhirnya menyebabkan resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin (Evans et al., 2011).

Glutation (*γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glycine*) merupakan tripeptida yang terdiri atas asam amino glisin, asam glutamate dan sistein dengan ikatan gamma peptida yang menghubungkan antara gugus amina sistein (yang melekat dengan ikatan peptida pada glisin) dengan gugus karboksil pada *rantai* samping glutamat. Glutation umumnya disingkat GSH, karena adanya gugus sulfhidril (-SH) yang terdapat pada sistein senyawa tersebut, juga merupakan bagian molekul glutation yang berperan aktif. GSH diambil oleh sel dalam bentuk asam amino atau dipeptida. Glutation (GSH) ditemukan hampir di semua jaringan mamalia dan terutama sangat terkonsentrasi di hati. Glutation dalam tubuh terdapat dua bentuk yaitu dalam bentuk kekurangan thiol, merupakan bentuk glutation tereduksi atau biasa dikenal sebagai glutation (GSH) dan bentuk disulfida-teroksidasi (GSSG) (Yuniastuti Ari. 2016).

Glutation (GSH) yang merupakan antioksidan enzimatik mampu mendetoksifikasi hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida dengan mereduksi glutation (Odzen et al., 2002), serta mencegah pembentukan radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif (Chevion et al. 2003). Status GSHPX turun dalam kondisi diabetes (Pasaoglu et al.,



terdapat dalam keadaan tereduksi (GSH) dan teroksidasi (GSSG), am tubuh adalah dalam bentuk tereduksi. GSH bekerja pada efek bertindak sebagai penangkal radikal bebas selama detoksifikasi oksida dan lipid peroksida. Dalam sel mamalia, GSH berfungsi on. Selama donasi elektron, GSH dikonversi menjadi GSSG oleh

glutathione peroksidase, tetapi direduksi kembali menjadi GSH oleh glutathione reduktase pada nikotinamid adenin dinukleotida fosfat. GSH memiliki berbagai efek fisiologis salah satunya ialah menghambat melanogenesis dengan menekan aktivitas tirosinase, dan pemberian GSH secara oral pada manusia mengurangi produksi melanin di kulit (Weschawalit et al. 2017).

Glutathione (GSH) adalah salah satu senyawa yang menghambat produksi melanin dengan cara menghambat aktivitas tyrosinase (Vika Katya A. 2019). Glutathione peroksidase (GSH-PX) yang merupakan antioksidan enzimatik mampu mendetoksifikasi hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida dengan mereduksi glutathione (Odzen et al., 2002), serta mencegah pembentukan radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif (Chevion et al., 2003). Status GSH-PX turun dalam kondisi diabetes (Pasaoglu et al., 2004).

Glutathione S-transferase (GST) adalah enzim dalam saliva yang dapat mengkatalisis reaksi konjugasi antara glutathione (GSH) dengan komponen elektrofilik dan berperan dalam detoksifikasi xenobiotik (Dhika PP dan Juni H. 2010). *Glutathione S-transferase* merupakan enzim multifungsi yang memainkan peran penting pada perlindungan sel dari kerusakan oleh bahan kimia toksik (Burg dkk., 2006). Enzim ini berperan dalam perubahan salah satu sitokin (leukotrien A4) menjadi produk hasil oksidasi asam arakhidonat, salah satunya prostaglandin melalui jalur lipooksigenase. Rantai koagulasi, jalur asam arakhidonat, serta pembentukan faktor pertumbuhan (*growth factor*), dan sitokin secara simultan bekerjasama memulai dan mempertahankan fase inflamasi (Fishman dan Tamara, 2007;).

Glutathione (GSH) disintesis dalam sitosol di hampir semua sel. Sintesis GSH dari asam amino penyusunnya melibatkan dua ATP yang membutuhkan langkah-langkah enzimatis :

1. L - glutamat + L - sistein + ATP \rightarrow γ - glutamil - L - sistein + ADP + Pi
2. γ - glutamil - L - sistein + L - glisin + ATP \rightarrow GSH + ADP + Pi

Konsentrasi GSH pada hati dapat mencapai 5-10 mM. Sedangkan GSSG kurang dari 1% GSH. GSH disimpan dalam 3 tempat utama pada sel eukariotik, yaitu hampir 90% GSH seluler berada pada sitosol, 10% pada mitokondria dan sisanya berada pada retikulum endoplasma. Kadar glutathione di dalam darah berada dalam rentangan 5-8 mM/l, dengan konsentrasi tertinggi di dalam hati, yang merupakan organ terpenting dalam fungsi detoksifikasi, lien, ginjal, paru, jantung, otak dan lambung. Kadar glutathione dalam tubuh menjadi aspek penting yang harus diperhatikan karena terganggunya sintesis dan metabolisme GSH akan mengakibatkan fungsi glutathione terganggu dan mengakibatkan munculnya berbagai penyakit dalam tubuh seperti liver, aging, cystic fibrosis, parkinson (Yuniastuti Ari. 2016).

Glutathione berperan dalam pemeliharaan status tiol redoks sebuah sel, mencegah kerusakan oksidatif, detoxifikasi endogen dan eksogen logam berat, penyimpanan dan transportasi sistein, serta untuk protein dan regulasi siklus sel dan diferensiasi sel. Perubahan homeostasis GSH berkaitan dengan sejumlah penyakit pada manusia (Yuniastuti Ari. 2016). Antioksidan seperti glutathione merupakan usaha menghambat radikal bebas intraseluler atau meningkatkan kemampuan enzim pertahanan



terhadap radikal bebas guna mencegah munculnya stres oksidatif dan komplikasi vaskular terkait diabetes (Bajaj S dan Khan A. 2012).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti menarik rumusan masalah yaitu "bagaimanakah efektivitas glutathione terhadap kadar glukosa darah dan kadar Nf- κ B pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana efektivitas glutathione terhadap kadar glukosa darah dan kadar Nf- κ B pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik?

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui efektivitas glutathione terhadap kadar glukosa darah tikus hiperglikemik.
- b. Untuk mengetahui efektivitas glutathione terhadap kadar Nf- κ B tikus hiperglikemik.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai bahan masukan dan informasi ilmiah kepada masyarakat khususnya tenaga kesehatan terkait efektivitas glutathione terhadap kadar glukosa darah dan kadar Nf- κ B pada tikus hiperglikemik

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan rujukan dan sebagai data sekunder untuk penelitian selanjutnya yang terkait dengan efektivitas glutathione terhadap kadar glukosa darah dan kadar Nf- κ B pada tikus hiperglikemik

1.5 Novelty dan Penelitian Pendukung

Beberapa teori pendukung dalam penelitian ini yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya, yaitu:

- a. Penelitian Nugroho, F. A., Ginting, R. M. S., dan Nurdiana (2015) yang berjudul "Kadar NF- κ B Pankreas Tikus Model Type 2 Diabetes Mellitus dengan Pemberian Tepung Susu Sapi" melaporkan bahwa kadar NF- κ B pankreas tikus pada Diabetes Mellitus tipe 2 dengan pemberian tepung susu sapi. Hasil yang didapatkan adalah rata-rata kadar NF- κ B pada kelompok kontrol positif (DM tipe 2) lebih tinggi dari pada kelompok negatif (DM). **Persamaan** dengan penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti yaitu menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai model penelitian diabetes mellitus tipe 2 dan mengukur kadar NF- κ B, faktor yang berperan dalam proses inflamasi. **Persamaan** ini menunjukkan bahwa penelitian ini mengeksplorasi aspek inflamasi dalam konteks diabetes tipe 2 pada model hewan yang sama. Namun, terdapat kebaharuan dan perbedaan antara jurnal tersebut dengan penelitian yang akan dilakukan oleh



peneliti. Penelitian Nugroho et al. (2015) berfokus pada efek pemberian tepung susu sapi terhadap kadar NF-kB di pankreas, menekankan pengaruh diet spesifik terhadap biomarker inflamasi. Sebaliknya, peneliti mengevaluasi efektivitas glutathione, yaitu antioksidan, terhadap kadar glukosa darah dan NF-kB, menambahkan dimensi baru dengan mengkaji potensi glutathione dalam modifikasi kadar glukosa darah serta inflamasi. Dengan demikian, kebaruan penelitian yang dilakukan oleh penulis terletak pada penggunaan glutathione untuk mempengaruhi dua parameter kunci (glukosa darah dan NF-kB), menawarkan perspektif baru dalam pengelolaan diabetes tipe 2 dibandingkan dengan fokus diet pada penelitian Nugroho et al. (2015).

- b. Penelitian Furman, B. L. (2021) yang berjudul "Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats" yang melaporkan bahwa efek pemberian dari *streptozotocin* pada mencit selama beberapa hari akan memberikan efek peningkatan glukosa darah. *Streptozotocin* pada hewan percobaan tikus menyebabkan efek diabetogenik yang dihasilkan melalui destruksi selektif sel β pankreas. Akibat dari mekanisme ini, hewan tersebut mengalami defisiensi insulin dan hiperglikemia sehingga terjadi pelonjakan glukosa darah. **Persamaan** jurnal tersebut dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti terletak pada penggunaan model tikus (*Rattus norvegicus*) untuk penelitian diabetes melitus tipe 2, serta fokus pada pengukuran parameter terkait diabetes dengan induksi Streptozotocin. **Perbedaan** mendasar terletak pada tujuan dan pendekatan penelitian. Penelitian Furman (2021) berfokus pada metodologi dan aplikasi model diabetes yang diinduksi oleh streptozotocin pada tikus dan bagaimana model ini digunakan untuk mempelajari diabetes tipe 1 dan tipe 2. Sebaliknya, peneliti mengevaluasi efektivitas glutathione, sebuah antioksidan, dalam mempengaruhi kadar glukosa darah dan kadar NF-kB pada tikus dengan diabetes tipe 2, menekankan intervensi terapeutik dan efeknya terhadap parameter metabolik dan inflamasi. **Nilai kebaruan** dari peneliti terletak pada penggunaan glutathione sebagai senyawa terapeutik untuk menilai dua aspek penting dalam diabetes tipe 2: kadar glukosa darah dan kadar NF-kB. Ini memberikan perspektif baru tentang bagaimana antioksidan dapat mempengaruhi kontrol glukosa darah dan peradangan, yang berbeda dari fokus utama penelitian Furman yang lebih menekankan pada pengembangan dan aplikasi model diabetes itu sendiri. Dengan demikian, penelitian yang dilakukan oleh penulis tidak hanya memperluas pemahaman tentang intervensi terapeutik dalam diabetes tipe 2 tetapi juga menambah pengetahuan tentang bagaimana glutathione dapat berperan dalam manajemen diabetes melalui modifikasi parameter kunci penyakit ini.

- c. Penelitian Zhang et al., (2017) yang berjudul "Metformin ameliorates diabetic nephropathy in a rat model of low-dose streptozotocin-induced" yang melaporkan bahwa pemberian metformin secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang mengalami diabetes yang diinduksi dengan *streptozotocin*. **Persamaan** antara jurnal tersebut dengan penelitian yang dilakukan oleh penulis terletak pada penggunaan model tikus untuk diabetes dan fokus pada intervensi terapeutik dalam diabetes melalui intervensi terapeutik. Penelitian Zhang et al. (2017) berfokus pada penggunaan metformin dalam mengatasi nefropati diabetik pada model



diabetes yang diinduksi dengan streptozotocin, sementara peneliti menguji efektivitas glutathione dalam mempengaruhi kadar glukosa darah dan kadar NF-kB pada tikus dengan diabetes tipe 2. Namun, terdapat **perbedaan signifikan** dalam fokus dan pendekatan kedua studi. Zhang et al. (2017) berfokus pada efek metformin terhadap komplikasi diabetes, khususnya nefropati diabetik, dan menggunakan model diabetes tipe 1 yang diinduksi oleh streptozotocin. Sebaliknya, penulis mengevaluasi peran glutathione, sebuah antioksidan, dalam memodulasi kadar glukosa darah dan kadar NF-kB, dengan fokus pada diabetes tipe 2 dan aspek inflamasi serta metabolik yang terkait. Nilai kebaruan dari peneliti terletak pada penggunaan glutathione untuk mengatasi dua parameter kunci dalam diabetes tipe 2: kadar glukosa darah dan NF-kB. Ini memberikan wawasan baru tentang bagaimana glutathione dapat mempengaruhi baik kontrol glukosa darah maupun proses inflamasi, berbeda dari fokus pada komplikasi ginjal yang diteliti Zhang et al. (2017).

- d. Penelitian Yu et al. (2023) yang berjudul "Aerobic exercise and metformin on intermuscular adipose tissue (IMAT): insights from multimodal MRI and histological changes in prediabetic rats" melaporkan bahwa hasil penelitiannya menunjukkan penurunan kadar kadar *Nf-k β* setelah diberikan intervensi metformin namun tidak signifikan secara statistik yang disebabkan keterbatasan durasi waktu yang diberikan. Persamaan utama antara jurnal tersebut dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti adalah penggunaan model tikus untuk penelitian diabetes dan pengujian intervensi terapeutik. Keduanya berusaha memahami bagaimana intervensi dapat mempengaruhi parameter terkait diabetes, baik itu melalui pengukuran biomarker atau perubahan dalam jaringan tubuh.

Namun, perbedaan utama terletak pada jenis intervensi dan parameter yang dianalisis. Penelitian Yu et al. (2023) mengevaluasi efek kombinasi latihan aerobik dan metformin terhadap jaringan adiposa intermuscular (IMAT) pada tikus yang mengalami pra-diabetes, menggunakan teknik pencitraan multimodal MRI dan perubahan histologis. Fokusnya adalah pada perubahan dalam jaringan adiposa dan efek dari kombinasi terapi fisik dan obat dalam konteks pra-diabetes. Sementara itu, peneliti menilai efektivitas glutathione dalam mempengaruhi kadar glukosa darah dan kadar NF-kB pada tikus diabetes tipe 2, dengan fokus pada mekanisme inflamasi dan metabolik yang terkait dengan diabetes tipe 2. Kebaruan dari penelitian yang dilakukan oleh peneliti terletak pada penggunaan glutathione sebagai terapi untuk modifikasi dua parameter penting dalam diabetes tipe 2: kadar glukosa darah dan NF-kB. Ini memberikan kontribusi baru terhadap pemahaman tentang potensi antioksidan dalam mengelola diabetes tipe 2 dan mengatasi aspek inflamasi penyakit. Dengan demikian, nilai kebaruan penelitian yang dilakukan oleh penulis terletak pada kombinasi intervensi dalam pendekatan terapeutik yang diusulkan, yang berbeda dari penelitian sebelumnya yang hanya berfokus pada intervensi tunggal pada jaringan adiposa dan intervensi kombinasi dalam penelitian Yu et al.



nyibe et al. (2021) yang berjudul "Effects of *Vernonia amygdalina* glutathione reductase and glutathione-S-transferase on alloxan Wistar rat" yang melaporkan bahwa pemberian *glutathione* pada

tikus yang mengalami hiperglikemik menunjukkan potensi dalam meningkatkan respons antioksidan dalam kondisi diabetes. Persamaan utama antara jurnal tersebut dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti terletak pada penggunaan model tikus untuk mempelajari efek intervensi dalam konteks diabetes. Kedua studi ini berfokus pada dampak terapi terhadap parameter yang terkait dengan diabetes, meskipun parameter dan jenis intervensi yang diuji berbeda. Penelitian Onyibe et al. (2021) mengeksplorasi efek fraksi dari *Vernonia amygdalina* pada enzim glutathione reductase dan glutathione-S-transferase pada tikus Wistar yang diabati dengan alloxan, sementara peneliti menguji efektivitas glutathione dalam mempengaruhi kadar glukosa darah dan kadar NF- κ B pada tikus diabetes tipe 2. Perbedaan signifikan terletak pada jenis intervensi dan parameter yang dianalisis. Penelitian Onyibe et al. (2021) berfokus pada efek dari ekstrak tumbuhan *Vernonia amygdalina* terhadap enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme glutathione, yang memberikan informasi tentang potensi terapeutik tanaman tersebut dalam modifikasi aktivitas enzimatik yang berhubungan dengan stres oksidatif dan diabetes. Sebaliknya, peneliti ingin menilai peran glutathione itu sendiri sebagai terapi untuk memodulasi kadar glukosa darah dan NF- κ B, yang berfokus pada aspek inflamasi dan metabolik dari diabetes tipe 2.

Nilai kebaruan dari peneliti terletak pada pendekatan langsung menggunakan glutathione untuk mempengaruhi dua parameter penting—glukosa darah dan NF- κ B—dalam konteks diabetes tipe 2, yang memberikan perspektif baru tentang bagaimana antioksidan dapat digunakan untuk mengelola diabetes tipe 2 secara komprehensif. Ini berbeda dari pendekatan Onyibe et al. (2021) yang mengkaji ekstrak tanaman dan dampaknya terhadap enzim spesifik, menawarkan kontribusi baru dalam memahami bagaimana glutathione dapat memodulasi proses patogenik diabetes melalui pengendalian inflamasi dan metabolisme.

- f. Penelitian Zhang, T., Jayachandran, M., Ganesan, K., & Xu, B. (2018) yang berjudul "Black truffle aqueous extract attenuates oxidative stress and inflammation in STZ-induced hyperglycemic rats via Nrf2 and NF- κ B pathways" yang melaporkan bahwa *glutathione* tidak cukup efektif dalam mengimbangi tingginya tingkat stres oksidatif pada kondisi hiperglikemia berat yang diberikan *streptozotocin*, sehingga gagal menekan aktivasi *Nf- κ B*. Persamaan utama antara jurnal tersebut dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti terletak pada penggunaan model tikus untuk mempelajari efek intervensi terhadap parameter terkait diabetes. Baik penelitian Zhang et al. (2018) maupun peneliti, mengukur pengaruh intervensi terhadap kadar NF- κ B, yang merupakan faktor penting dalam proses inflamasi yang terkait dengan diabetes. Selain itu, keduanya mengkaji aspek inflamasi dan stres oksidatif dalam kondisi hiperglikemia, meskipun dengan pendekatan yang berbeda.



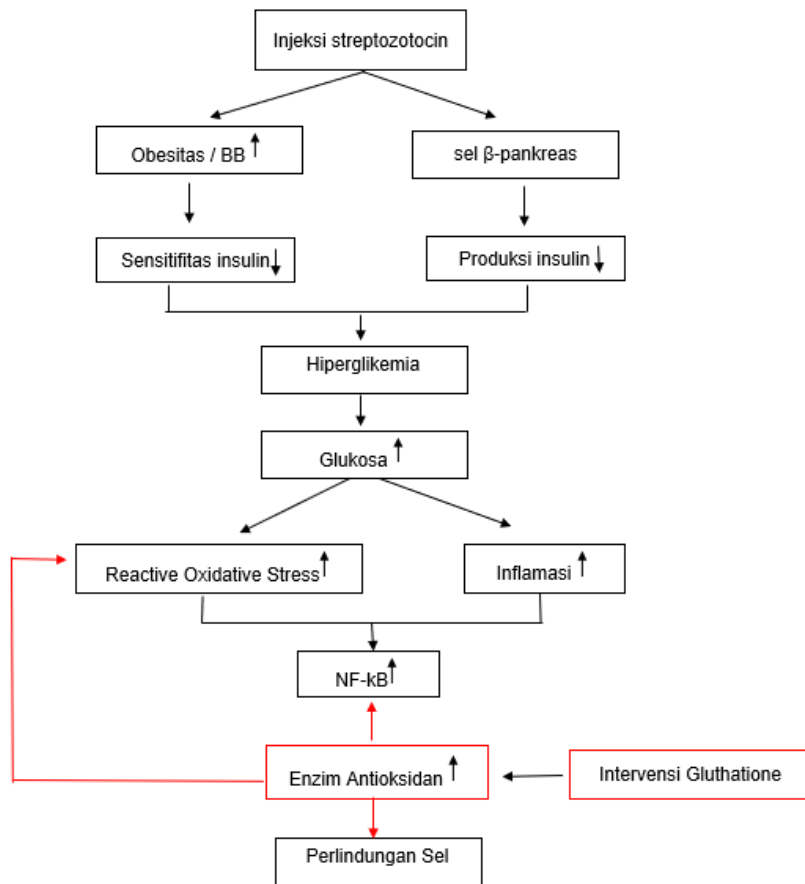
utama terletak pada jenis intervensi dan hasil yang dilaporkan. Penelitian Zhang et al. (2018) menilai efek ekstrak truffle hitam terhadap stres oksidatif dan inflamasi pada tikus hiperglikemik yang diinduksi oleh streptozotocin (STZ), dengan Nrf2 dan NF- κ B sebagai target. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak truffle hitam efektif dalam mengurangi stres oksidatif dan inflamasi melalui peningkatan jalur Nrf2 dan inhibisi jalur NF- κ B. Di sisi lain, peneliti ingin menguji

efektivitas glutathione dalam mempengaruhi kadar glukosa darah dan kadar NF- κ B, dengan fokus pada potensi glutathione dalam mengatasi aspek inflamasi dan metabolik diabetes tipe 2.

Nilai kebaharuan dari peneliti terletak pada penggunaan glutathione sebagai terapi yang bertujuan untuk memodulasi dua parameter penting—glukosa darah dan NF- κ B sekaligus, dengan pendekatan yang berbeda dari penelitian Zhang et al. (2018). Hasil penelitian Zhang melaporkan bahwa glutathione tidak cukup efektif dalam mengimbangi tingginya tingkat stres oksidatif dan gagal menekan aktivasi NF- κ B dalam kondisi hiperglikemia berat, menunjukkan keterbatasan glutathione dalam situasi tersebut. Dengan fokus pada glutathione dan efeknya terhadap kadar glukosa darah serta NF- κ B, peneliti menawarkan perspektif baru tentang efektivitas antioksidan dalam mengelola diabetes tipe 2, yang dapat memberikan wawasan lebih lanjut mengenai potensi dan keterbatasan glutathione dibandingkan dengan terapi berbasis ekstrak tanaman.



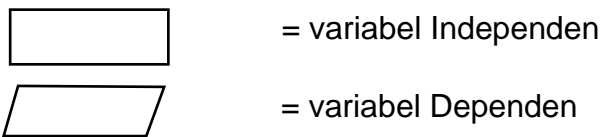
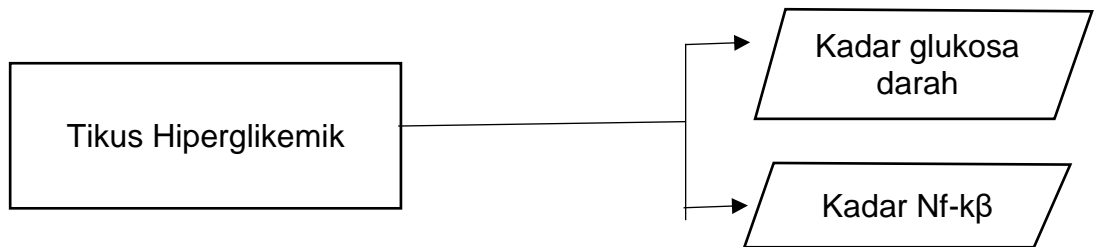
1.6 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori Penelitian Ozougwu JC et al. 2013; Sherwood, 2011; Weschawalit et al. 2017, Barnes *et al.*, 1997, Mark RZ & James MK. 2012; Evans et al., 2011; Zhou et al, 2024)



1.7. Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

1.8 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang dan literature review di atas, maka hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh glutation terhadap kadar glukosa darah dan kadar Nf-k β tikus (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik ?



1.9. Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Kriteria Objektif	Skala
Variabel Independen			
Tikus Hiperqlikemik	Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang berhubungan dengan hiperglikemia persisten.	Normal: 75-150 mg/dL DM Ringan: 150-200 mg/dL DM Sedang: 200-400 mg/dL, DM Berat: >400 mg/dL	Nominal
Variabel Dependen			
Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Kriteria Objektif	Skala
Glutathione	<i>Glutathione</i> terdapat dalam keadaan tereduksi (GSH) dan teroksidasi (GSSG), sebagian besar didalam tubuh adalah dalam bentuk tereduksi. GSH bekerja pada efek antioksidan dengan bertindak sebagai penangkal radikal bebas selama detoksifikasi reduktif hidrogen peroksida dan lipid peroksida. Dalam penelitian ini menggunakan obat glutathion merk glutathion	Oral 200 mg	Nominal
Glukosa Darah	Glukosa merupakan produk akhir terbanyak dari metabolisme karbohidrat. Glukosa dalam darah juga berasal dari proses glukoneogenesis dan glikogenolisis. Kadar glukosa darah dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan menggunakan instrumen GDS GlucoDr	Glukosa Darah 20-600 mg/dL	Nominal
Nuclear Faktor kappa B	<i>Nuclear factor kappa beta</i> adalah protein yang terdapat dalam sitoplasma yang berperan penting dalam mengatur sel-sel dalam tubuh. <i>Nuclear factor kappa beta</i> diperiksa menggunakan kit dari BT Lab Nf-k β menggunakan instrument <i>ELISA reader</i>	Kadar dihitung dalam satuan ng/mL. μ M/L	Nominal



BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

2.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2023 hingga bulan Oktober 2023.

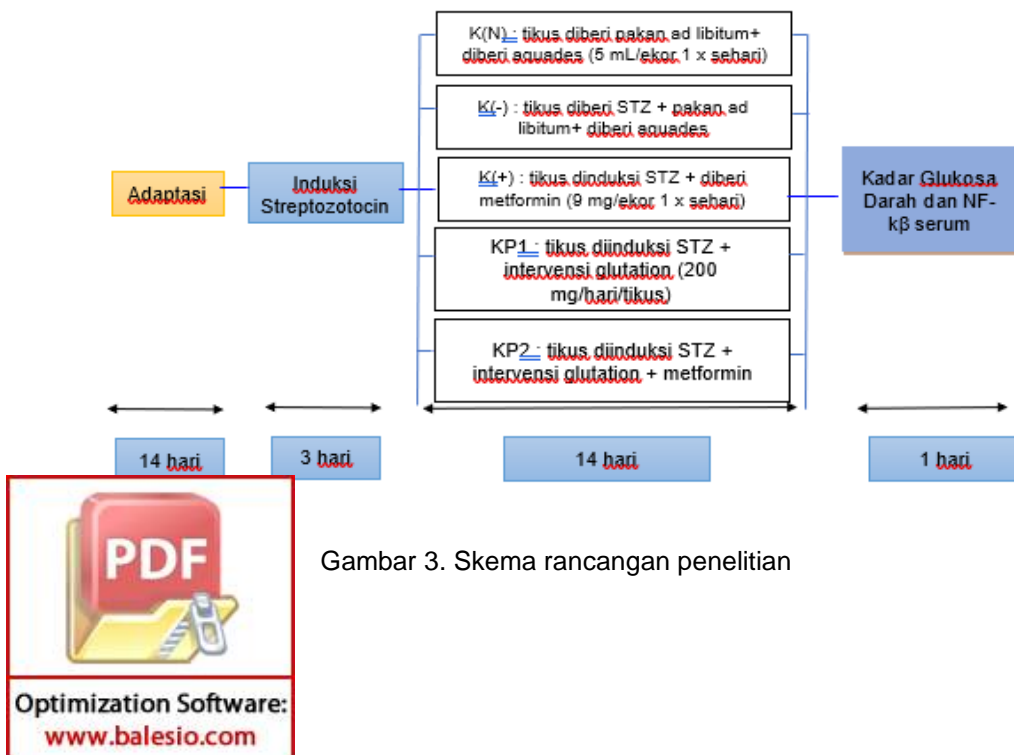
2.1.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di:

- a. Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Pendidikan Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Hasanuddin Makassar, untuk persiapan, perlakuan, dan pemeriksaan gula darah hewan coba.
- b. Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)* Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin Makassar untuk melakukan pemeriksaan kadar Nf-k β

2.2 Desain Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain penelitian *Post-Test Control Group Design*. Penelitian ini diamati efektivitas glutatation terhadap kadar gula darah dan kadar Nf-k β pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik yang terbagi menjadi 5 kelompok. Dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 3. Skema rancangan penelitian

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

2.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut.

- a. Kriteria Inklusi
 - 1) Sehat
 - 2) Bergerak aktif
 - 3) Berumur 2-3 bulan
 - 4) Berjenis kelamin jantan
 - 5) Berat >200 gram
- b. Kriteria Eksklusi
 - 1) Betina
 - 2) Hamil
 - 3) Berat badan < 150 gram
 - 4) Rambut rontok
 - 5) Kelainan anatomis
 - 6) Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang sakit atau mengalami gangguan kesehatan selama masa adaptasi.
 - 7) Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) mati saat penelitian berlangsung.

2.3.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipelihara di Laboratorium Terparu, Rumah Sakit Pendidikan Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Hasanuddin Makassar dengan umur 2-3 bulan serta memiliki bobot yaitu 150-200 gram sebanyak 25 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol normal (K-N), kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), kelompok perlakuan 1 (KP1), dan kelompok perlakuan 2 (KP2). Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus *Federer*, yaitu sebagai berikut:

$$\begin{aligned} (t - 1) (n - 1) &> 15 \\ (5 - 1) (n - 1) &> 15 \\ 5n - 5 - n + 1 &> 15 \\ 4n - 4 &> 15 \\ 4n &> 19 \\ n &> 4,75 \quad (5) \end{aligned}$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok

ek kelompok

nelitian

am penelitian ini adalah tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*) yang

laboratorium Terparu, Rumah Sakit Pendidikan Hewan, Fakultas

van, Universitas Hasanuddin Makassar dengan umur 2-3 bulan

bobot yaitu 150-200 gram sebanyak 25 ekor yang terbagi dalam 5



kelompok yaitu kelompok kontrol normal (K-N), kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), kelompok perlakuan 1 (KP1), dan kelompok perlakuan 2 (KP2). Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus *Federer*, yaitu sebagai berikut:

$$\begin{aligned}(t - 1) (n - 1) &> 15 \\(5 - 1) (n - 1) &> 15 \\5n - 5 - n + 1 &> 15 \\4n - 4 &> 15 \\4n &> 19 \\n &> 4,75 \quad (5)\end{aligned}$$

Keterangan:

t = Jumlah kelompok

n = Jumlah subjek kelompok

2.4 Alat dan Bahan

2.4.1 Alat

Timbangan digital untuk mengukur berat badan tikus, kandang tikus, tempat pakan dan minum tikus, spoit 5 cc, gelas ukur, mikropipet, tabung *eppendorf*, tabung *sentrifuge*, *cuvet*, mikroskop, *sentrifuges*, sonde/*feeding needle*, inkubator, *plate shaker*, mikropipet, *assay plate*, ELISA reader, *Instrumen GlucoDr*, *underpad*.

2.4.2 Bahan

Tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*), glutathion, serum, pakan tikus (pelet), air minum, sekam, label untuk kandang, alkohol 70%, aquades, kapas alkohol, eter, PBS, *Kit Insert BT Lab MDA*, tip mikropipet, distilled water, tube sekali pakai untuk sampel, absorbent paper, lancet, strip test glukosa.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Tahap Pre Intervensi

a. Pemeliharaan Hewan Coba

- 1) Sebelum memulai percobaan, tikus jantan wistar diadaptasikan di dalam kandang selama 14 hari untuk menyeragamkan cara hidup dan makanannya.
- 2) Setiap hari tikus jantan wistar dipantau kesehatannya, dan tikus jantan wistar ditimbang tiap minggu.
- 3) Setelah beradaptasi tikus jantan wistar ditempatkan secara individual dalam kandangnya masing-masing serta diberikan pakan diet standar 5-10 g/hari serta air minum yang diberikan secara *ad libitum*.
- 4) Menjaga lingkungan kandang tikus jantan wistar agar tidak lembab, berikan setiap hari, dan mengatur suhu ruangan berkisar 28-32°C. penyiangan yang cukup.

Pemilihan sampel darah

Sebelum perlakuan dan pengamatan sampel darah tikus wistar diambil untuk melakukan pemeriksaan kadar gula darah dan kadar MDA



pra intervensi, sampel darah tikus diambil melalui mata sebanyak 2-3 mL yang ditampung dalam tabung antikoagulan, kemudian sampel darah dilakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm, setelah sentrifugasi serum pada tabung dipipet sebanyak 300 μ L menggunakan clinipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*, dan sampel dialiquot dalam kulkas pendingin dengan suhu -20°C selama 2-3 bulan.

2.5.2 Tahap Intervensi

a. Induksi streptozotocin untuk diabetes melitus

Setelah masa adaptasi berakhir, hewan coba akan dibagi menjadi 5 kelompok secara *random* dengan jumlah yang sama yaitu $n=5$ pada tiap kelompoknya. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam sebelum induksi streptozotocin. Streptozotocin dilarutkan dalam 0,01 M buffer sitrat, pH 4,5 dan disiapkan dalam kondisi *fresh* untuk penggunaan dalam waktu 10-15 menit. Injeksi streptozotocin diberikan secara intraperitoneal dan dosis ditentukan berdasarkan berat badan tikus. Dosis streptozotocin yang diberikan yaitu 45 mg/kg BB (Nurdiana, 1998). Injeksi streptozotocin dilakukan hanya sekali untuk menginduksi diabetes melitus (Nengah TS, dkk. 2018).

b. Pengamatan gula darah setelah induksi streptozotocin

Setelah injeksi streptozotocin, kadar gula darah tikus diukur dengan menggunakan glukometer dengan cara ujung ekor tikus dipotong atau disobek sekitar 1 mm menggunakan gunting, kemudian darah tikus disentuhkan ke *stick* glukometer dan dicatat nilai yang muncul di display glukometer.

Pengamatan glukosa darah setelah injeksi streptozotocin yaitu hari ke-0 dan hari ke-3. Pada hari tersebut diamati persentase kondisi terjadinya diabetes pada tikus.

Kondisi diabetes normal adalah 75-150 mg/dL, diabetes ringan yaitu 150-200 mg/dL, diabetes sedang yaitu 200-400 mg/dL, dan kondisi diabetes berat yaitu >400 mg/dL (Lenzen, *et al.* 1996; dalam Nengah TS, dkk. 2018).

c. Intervensi glutathion tikus hiperglikemik

- 1) Kelompok kontrol normal (N) yaitu kelompok yang hanya diberikan pakan diet 5-10 g/hari + aquades dengan dosis 5 mL/ekor (pagi dan siang) selama 14 hari
- 2) Kelompok kontrol negatif (STZ) yaitu kelompok yang diinduksi STZ dan diberi pakan diet 5-10 g/hari + aquades dengan dosis 5 mL/ekor (pagi dan siang) selama 14 hari
- 3) Kelompok kontrol positif (MET) yaitu kelompok yang diinduksi streptozotocin dan diberi intervensi metformin 9 mg/200 BB/hari selama 14 hari
- 4) Kelompok perlakuan 1 (GSH) yaitu kelompok yang diinduksi streptozotocin dan diintervensikan GSH/ekor/hari selama 14 hari



- 5) Kelompok perlakuan 2 (MetGsh) yaitu kelompok yang diinduksi streptozotocin dan diintervensikan glutation 200 mg/ekor/hari dan metformin 9 mg/ekor/hari selama 14 hari
- 6) Setelah hari ke 15 semua kelompok perlakuan dilakukan pengambilan darah kemudian dilakukan pemeriksaan glukosa darah dan kadar Nf-k β serum.

2.5.3 Tahap Post-Intervensi

a. Pemeriksaan Kadar Nf-k β

- 1) Instrument : *ELISA Reader (Thermo)*
- 2) Metode : *ELISA Sandwich*
- 3) Merk kit : *BT Lab*
- 4) Pabrik : *China*
- 5) Rentang deteksi : *1,563 – 100 ng/mL*
- 6) Reaktivitas : *Manusia*
- 7) Alat dan bahan
 - a) Alat : inkubator, plate shaker, plate reader dengan filter 450 nm, mikropiper, assay plate, ELISA reader, piper multichanel.
 - b) Bahan : tip pipet mirko, distilled water, tube sekali pakai untuk sampel, absorbent paper, kit insert elisa Nf-k β .
- 8) Komponen Kit Insert
 - a) Plate mikro ELISA
 - b) Standar liofilisasi
 - c) Pengencer buffer
 - d) Reagen deteksi A
 - e) Reagen deteksi B
 - f) Substrat TMB
 - g) Stop solution
 - h) Larutan penyangga
 - i) Plate sealer
- 9) Prosedur Kerja
 - a) Siapkan semua reagen, larutan standar dan sampel sesuai instruksi. Simpan semua reagen di suhu ruangan sebelum digunakan. Perlakuan dilakukan di suhu ruangan.
 - b) Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip ke dalam bingkai untuk digunakan. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C.
 - c) Tambahkan 50 μ l standar ke well. Catatan: jangan tambahkan *biotinylated antibody* ke standar *well* karena larutan standar sudah mengandung *biotinylated antibody*.
 Tambahkan 40 μ l sampel ke sampel *well* kemudian tambahkan 10 μ l anti *body* ke sampel *well*, kemudian tambahkan 50 μ l *streptavidin HRP* ke sampel *well* dan standar *well* (jangan tambahkan *blank control well*). Tutup dengan *sealer* kemudian inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Setelah selesai dengan *sealer* kemudian cuci *plate* sebanyak 5 kali dengan *wash buffer*. Cuci *well* dengan 300 μ l *wash buffer* selama 30 detik sampai 1 menit untuk



semua pencucian. Tepuk-tepuk *plate* di atas tisu atau bahan penyerap lainnya.

- f) Tambahkan 50 μ l larutan substrat A ke semua *well* kemudian tambahkan 50 μ l larutan substrat B ke semua *well*. Inkubasi *plate* yang telah di tutup dengan sealer selama 10 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap.
- g) Tambahkan 50 μ l larutan *stop* ke semua *well*, warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
- h) Tentukan *optical density* (*OD value*) ke semua *well* segera menggunakan pembaca mikroplate set ke 450 nm dalam 10 menit setelah penambahan larutan *stop*.

b. Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

b. Spesifikasi produk

- 1) Sampel darah yang digunakan adalah darah utuh kapiler dan vena
- 2) Enzim GOD (*Glucose Oxidase Enzyme*)
- 3) Rentang pengukuran 20-600 mg/dL
- 4) Waktu pengukuran 11 detik
- 5) Kapasitas 100 memori

c. Cara kerja

- 1) Hidupkan Alat: Tekan tombol power. Simbol strip akan berkedip serta nomor kode (pastikan nomor kode sama dengan nomor yang terdapat dalam tabung)
- 2) Masukkan strip dilubang alat sampai keluar bunyi "beep"
- 3) Ambil sampel darah : Ambil sampel darah dengan lancet device kurang lebih 4 microliter
- 4) Tempelkan Sampel Darah Pada Strip: darah akan otomatis terserap kedalam strip. Pastikan strip terisi penuh
- 5) Jangan meneteskan sampel darah di atas permukaan
- 6) Tunggu 11 detik untuk memperoleh hasil pengukuran, hasil akan otomatis tersimpan dalam alat
- 7) Lepaskan Strip: Tarik keluar strip dan buang



2.8 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin (RSPTN UH) – RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar, dengan Nomor Surat 662/UN4.6.4.5.31/ PP36 / 2023.

