

**PENGARUH *TREADMILL* DENGAN PENINGKATAN
DURASI DAN KECEPATAN TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID (MDA) DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS
MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

**TIA SUNDARI
135130101111011**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH *TREADMILL* DENGAN PENINGKATAN DURASI DAN
KECEPATAN TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA)
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS
MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2**

**Oleh:
TIA SUNDARI
135130101111011**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 17 Juli 2017
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS
NIP. 19520412 198002 1 001

drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech
NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Tia Sundari
NIM : 135130101111011
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

PENGARUH *TREADMILL* DENGAN PENINGKATAN DURASI DAN KECEPATAN TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri di bawah payung penelitian dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 22 Juli 2017
Yang menyatakan,

(Tia Sundari)
NIM.135130101111011

Pengaruh *Treadmill* dengan Peningkatan Durasi dan Kecepatan terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histopatologi Ginjal pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2

ABSTRAK

Diabetes Melitus tipe 2 (DMT2) merupakan penyakit gangguan metabolik yang disebabkan oleh resistensi insulin dan penurunan fungsi sel β pankreas. Peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) pada DMT2 dapat menyebabkan komplikasi ke berbagai organ, salah satunya adalah ginjal. *Treadmill* merupakan salah satu upaya untuk mengurangi efek DMT2 dengan memperbaiki homeostasis glukosa dan meningkatkan sensitifitas insulin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *treadmill* terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan gambaran histopatologi ginjal pada tikus (*Rattus norvegicus*) model DMT2 dengan induksi *high fat diet* (HFD) sebanyak 40 g/ekor/hari selama 64 hari dan injeksi *multiple low dose streptozotocin* (MLD STZ) dosis 30 mg/kg BB secara intraperitoneal, sebanyak dua kali injeksi dengan interval pemberian injeksi 1 minggu. Penelitian ini menggunakan tiga kelompok yaitu normal sedentari, DMT2 sedentari, dan DMT2 *treadmill*. *Treadmill* dilakukan selama 6 hari dalam seminggu, dengan kecepatan dan durasi yang meningkat setiap 2 minggu yaitu 10 meter/menit selama 10 menit, 14 meter/menit selama 22 menit, 18 meter/menit selama 34 menit, 22 meter/menit selama 46 menit, dan 27 meter/ menit selama 60 menit. Kadar MDA diukur dengan menggunakan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA) dan gambaran histopatologi ginjal diwarnai dengan *Hematoxylin Eosin* (HE). Hasil penelitian menunjukkan *treadmill* secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar MDA dan menurunkan ekspansi sel mesangial, penebalan membran filtrasi serta memperbaiki kerusakan sel-sel ginjal, dengan cara meningkatkan ambilan glukosa dan sensitivitas insulin, sehingga dapat disimpulkan bahwa latihan fisik *treadmill* dapat menurunkan kadar MDA dan memperbaiki histopatologi ginjal pada tikus model DMT2.

Kata kunci: DMT2, histopatologi ginjal, MDA, *treadmill*.

Effect of Treadmill with Duration and Speed Increase to Malondialdehyde (MDA) Level and Kidney Histopathology on Rat Model of Type 2 Diabetes Mellitus

ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a metabolic disorder caused by retention of insulin and reduction of pancreatic β -cell function. Increased ROS (Reactive Oxygen Species) in T2DM can cause complication to various organs, such as kidney. Treadmill is one attempt to reduce the effects of T2DM by improving glucose homeostasis and insulin sensitivity. The aims of this study was to determine the effect of treadmill towards malondialdehyde (MDA) level and the description of kidney histopathology on T2DM rats (*Rattus norvegicus*) induced by high fat diet (HFD) 40 g/rat/day for 64 days and multiple low dose streptozotocin (MLD STZ) injection of 30 mg/kg BW intraperitoneally, given twice at interval a week administration. The rats were divided into three groups: normal sedentary, T2DM sedentary, and T2DM treadmill. The treadmill was conducted for 6 days in a week, with the speed and duration increased every 2 weeks are 10 meters/minute for 10 minutes, 14 meters/minute for 22 minutes, 18 meters/minute for 34 minutes, 22 meters/minute for 46 minutes and 27 meters/minute for 60 minutes. MDA level were determined using Thiobarbituric Acid (TBA) Assay and histopathological observation of kidney stained using Hematoxylin Eosin (HE). The result showed that physical exercise (treadmill) decrease MDA level significantly ($p < 0,05$) and decrease mesangial expansion, filtration membrane thickness, and repaired kidney cells damage, by increasing insulin independent glucose uptake and insulin sensitivity. The conclusion is physical exercise (treadmill) decrease MDA level and repaired histopathological kidney in rat model of T2DM.

Keywords: T2DM, kidney histopathology, MDA, treadmill.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Pengaruh Treadmill dengan Peningkatan Durasi dan Kecepatan terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histopatologi Ginjal pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2”**.

Penulis menyampaikan penghargaan setinggi-tingginya kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini dan secara khusus penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. dr. Achmad Rudijanto, Sp.PD.KE yang memiliki payung penelitian ini, Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, M.S. selaku pembimbing I dan drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan kepada penulis.
2. drh. Ajeng Aeka, M.Sc selaku penguji I dan Agri Kaltaria Anisa, S.Farm, Apt. selaku penguji II atas tanggapan dan saran yang diberikan.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan demi kemajuan FKH UB.
4. Ayah dan Ibu tercinta beserta keluarga besar yang telah banyak memberikan dukungan, doa dan pengorbanan baik secara moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
5. Tim Sukses DM (Dita Wahyuning Tyas, Bekti Sri Utami, Aziz Aninur Rahman, Alex Hariyono Putra, dan Ilman Rois Sabillah) yang telah berjuang

bersama melaksanakan penelitian, memberikan semangat dan kerja sama yang baik.

6. dr. Yensuari, Sp.PD, dr. Lindawati, Sp.PD, dan dr. Aywar Zamri, Sp.PD yang memiliki payung penelitian ini dan telah memberikan banyak bantuan, saran dan motivasi daam penelitian ini.
7. Seluruh kolega dan civitas akademika FKH UB yang telah terlibat dalam kelancaran pembuatan skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan dapat menambah pengetahuan baik bagi penulis maupun bagi pembaca, Aamiin.

Malang, 22 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|----------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI | ii |
| LEMBAR PERNYATAAN | iii |
| ABSTRAK | iv |
| ABSTRACT | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR SINGKATAN | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3. Batasan Masalah..... | 4 |
| 1.4. Tujuan Penelitian..... | 5 |
| 1.5. Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1. Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model Diabetes Melitus (DM) tipe 2..... | 6 |
| 2.2. HFD | 7 |
| 2.3. STZ..... | 9 |
| 2.4. Glukoneogenesis | 11 |
| 2.5. Diabetes Melitus Tipe 2 | 12 |
| 2.6. Treadmill | 14 |
| 2.7. Malondialdehid (MDA)..... | 15 |
| 2.8. Ginjal | 17 |
| BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN | 19 |
| 3.1. Kerangka Konsep | 19 |
| 3.2. Hipotesis Penelitian..... | 22 |
| BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN | 23 |
| 4.1. Waktu dan Tempat Penelitian | 23 |
| 4.2. Alat dan Bahan | 23 |
| 4.3. Rancangan Penelitian | 24 |
| 4.4. Sampel Penelitian | 24 |
| 4.5. Variabel Penelitian | 25 |
| 4.6. Tahapan Penelitian. | 25 |
| 4.6.1. Persiapan Hewan Percobaan. | 25 |
| 4.6.2. Tatalaksana Pembuatan Hewan Model DMT2. | 26 |
| 4.6.3. Perlakuan Sedentari dan <i>Treadmill</i> | 27 |
| 4.6.4. Euthanasi Hewan Coba. | 27 |
| 4.6.5. Pembuatan Kurva Standar MDA..... | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 4.6.6. Pengukuran Kadar Malondialdehida | 28 |
| 4.6.7. Pembuatan Preparat Histopatologi..... | 29 |
| 4.6.8. Pengamatan Preparat Histopatologi | 30 |
| 4.7. Analisa data | 30 |
| BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN | 31 |
| 5.1. Metadata | 31 |
| 5.2. Pengaruh Latihan Fisik (<i>Treadmill</i>) terhadap kadar Malondialdehid (MDA) Ginjal pada Tikus (<i>Rattus</i> <i>norvegicus</i>) Model Diabetes Melitus Tipe 2 | 33 |
| 5.3. Pengaruh Latihan Fisik (<i>Treadmill</i>) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal pada Tikus (<i>Rattus</i> <i>norvegicus</i>) Model Diabetes Melitus Tipe 2 | 42 |
| BAB 6. PENUTUP | 51 |
| 6.1. Kesimpulan | 51 |
| 6.2. Saran | 51 |
| DAFTAR PUSTAKA | 52 |
| LAMPIRAN..... | 59 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|----------------|
| 2.1. <i>Rattus norvegicus</i> | 6 |
| 2.2. Mekanisme FFA menyebabkan resistensi insulin | 9 |
| 2.3. Mekanisme kerja STZ merusak sel | 11 |
| 2.4. Mekanisme lipid peroksidasi | 16 |
| 2.5. Histologi ginjal dan Histopatologi ginjal diabetes | 18 |
| 3.1. Mekanisme kerja induksi dan terapi DMT2 | 19 |
| 5.1. FFA menghambat sinyal intaseluler pada proses uptake glukosa | 36 |
| 5.2. Jalur Peningkatan ROS pada kondisi hiperglimia..... | 37 |
| 5.3. Regulasi ambilan glukosa pada saat exercise | 40 |
| 5.4. Gambaran histopatologi ginjal dengan pewarnaan HE..... | 43 |
| 5.5. Mekanisme hipertropi tubulus pada kondisi hiperglikemia..... | 48 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|----------------|
| 4.1. Rancangan Penelitian | 24 |
| 5.1. Rata-rata MDA pada ginjal tikus kontrol, tikus yang diinduksi DMT2 tanpa perlakuan <i>treadmill</i> dan tikus yang diinduksi DMT2 dengan perlakuan <i>treadmill</i> | 34 |

DAFTAR SINGKATAN

| Simbol/ Singkatan | Keterangan |
|-------------------------------|---|
| ANOVA | : <i>Analysis of Variance</i> |
| ADP | : <i>Adenosine Diphospat</i> |
| AGEs | : <i>Advanced Glycation End Products</i> |
| AMP | : <i>Adenosine Monophospat</i> |
| AMPK | : <i>AMP-Activated Protein Kinase</i> |
| Akt | : <i>serine/threonine-specific protein kinase</i> |
| ATP | : <i>Adenosine Triphospat</i> |
| BW | : <i>Body Weight</i> |
| Ca ²⁺ | : <i>Ion Kalsium</i> |
| CAT | : <i>Catalase</i> |
| CDK | : <i>Cycling Dependent Kinase</i> |
| DAG | : <i>Diacylglycerol</i> |
| DM | : <i>Diabetes Melitus</i> |
| DMT1 | : <i>Diabetes Melitus Tipe 1</i> |
| DMT2 | : <i>Diabetes Melitus Tipe 2</i> |
| DNA | : <i>Deoxyribonucleic Acid</i> |
| ECM | : <i>Extracelullar Matrix</i> |
| FFA | : <i>Free Fatty Acid</i> |
| GAGs | : <i>Glycosaminoglican</i> |
| G1 | : <i>Gap-1, Cell Cycle Phase 1</i> |
| GPX | : <i>Glutathione Peroxidase</i> |
| GSH | : <i>Glutathione</i> |
| GLUT | : <i>Glukosa Transporter</i> |
| H | : <i>Hidrogen</i> |
| HCl | : <i>Asam Klorida</i> |
| HE | : <i>Hematoksilin-Eosin</i> |
| HFD | : <i>High Fat Diet</i> |
| HNE | : <i>4-hydroxy-2-nonenal</i> |
| H ₂ O ₂ | : <i>Hidrogen Peroksida</i> |
| IGF-1 | : <i>Insulin like Growth Factor-1</i> |
| IKK β | : <i>Inhibitory kB kinase β</i> |
| IL | : <i>Interleukin</i> |
| IRS | : <i>Insulin Receptor Substrate</i> |
| L* | : <i>Lipid radikal</i> |
| LOO* | : <i>Lipid peroksil radikal</i> |
| LOOH | : <i>Lipid hiropersida</i> |
| LSD | : <i>Least Significant Difference</i> |
| MDA | : <i>Malondialdehida</i> |
| ml | : <i>milliliter</i> |
| MLD STZ | : <i>Multiple Low Dose Streptozotocin-1</i> |

| | |
|-----------------------------|--|
| mTORCH-1 | : <i>mammalian target of rapamycin complex 1</i> |
| NaCl | : Natrium Clorida |
| NAD ⁺ | : Nicotinamide Adenine Dinucleotid |
| NADPH | : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phospat |
| NaOH | : Natrium Hidroksida |
| NF-κβ | : <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i> |
| NO | : <i>Nitrit Oxide</i> |
| OH ⁻ | : Hidroksil |
| O ₂ | : Oksigen |
| O ₂ ⁻ | : Superoksida |
| ODC | : <i>Ornithine Decarboxylase</i> |
| PBSA | : <i>Phospat Buffer Saline Azida</i> |
| PI3K | : Phospatidylinositol-3 Kinase |
| PKB | : Protein Kinase B |
| PKC | : Protein Kinase C |
| PUFA | : <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i> |
| RAL | : Rancangan Acak lengkap |
| ROS | : <i>Reactive Oxygen Species</i> |
| rpm | : radian per menit |
| Ser | : Serine |
| SGLT | : <i>Sodium Glucose Transporter</i> |
| STZ | : <i>Streptozotocin</i> |
| SOD | : <i>Sueroxide Dismutase</i> |
| T2DM | : <i>Type 2 Diabetes Mellitus</i> |
| TBA | : <i>Thiobarbituric Acid</i> |
| TBC1D1 | : tre-2/USP6,BUB2,cdc16 domain family member 1 |
| TBC1D4 | : tre-2/USP6,BUB2,cdc16 domain family member 4 |
| TCA | : <i>Tricarboxylic Acid</i> |
| TGFβ | : <i>Transforming Growth Factor Beta</i> |
| TMP | : 1,1,3,3-tetrametoksiopropana |
| TNFα | : <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> |
| Thr | : Threonine |
| TSC | : <i>Tuberous Sclerosis Complex</i> |
| TTGO | : Tes Toleransi Glukosa Oral |
| VEGF | : <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> |
| XOD | : <i>Xanthine Dismutase</i> |
| α | : alpha |
| β | : beta |
| μl | : microliter |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|----------------|
| 1. Rancangan Perlakuan | 60 |
| 2. Kerangka Operasional | 62 |
| 3. Jadwal Treadmill Tikus DMT2..... | 63 |
| 4. Perhitungan Dosis STZ dan Glukosa TTGO | 64 |
| 5. Perhitungan Volume Injeksi STZ..... | 66 |
| 6. Hasil Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO)..... | 68 |
| 7. Prosedur Pengukuran Kadar Malondialdehid | 69 |
| 8. Pembuatan Preparat Histologi Ginjal..... | 71 |
| 9. Hasil Pengukuran Kadar MDA | 73 |
| 10. Tingkat Konsumsi Pakan Tikus | 75 |
| 11. Perhitungan Statistik | 76 |
| 12. Sertifikat Laik Etik | 79 |