

**PENELITIAN  
DANA DIPA FAKULTAS KEDOKTERAN**



Kampus DIPA  
Kedokteran/Biokimia

**HUBUNGAN KADAR GLICOSYLATED HAEMOGLOBIN  
DENGAN KADAR Fe DAN AKTIVITAS KATALASE PADA  
PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2**

**OLEH**

**ETI YERIZEL  
FADIL OENZIL  
RIFZA**

PERPUSTAKAAN  
Fakultas Kedokteran Univ. Andalas  
Padang  
TERDAFTAR  
Tanggal: 21 - 5 - 2015  
No. B.I. : 321 / pust - 2015

**BAGIAN BIOKIMIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
TAHUN 2012**

Kampus DIPA  
Biokimia

A. Judul penelitian : Hubungan Glycosilated Haemoglobin dengan kadar Fe dan Aktivitas Katalase pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2

B. Bidang Ilmu : Biokimia dan penyakit Dalam

C. Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik (kebanyakan hereditas) sebagai akibat kurangnya insulin efektif baik oleh karena adanya disfungsi sel beta pankreas atau ambilan glukosa di jaringan perifer. DM dibedakan menjadi 2 tipe yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. Diabetes melitus merupakan masalah kesehatan di Indonesia dan di beberapa negara berkembang. Beberapa negara di Asia Tenggara mempunyai angka kejadian yang tertinggi di Dunia (Mokdad, 2003). Angka kejadian mengalami peningkatan dari tahun ke tahun yang akan mempengaruhi menurunnya kualitas sumber daya manusia apabila tidak mendapat penanganan yang baik (Murtiwi, 2007). Terjadinya peningkatan penderita DM untuk 20 sampai 30 tahun mendatang ini disebabkan oleh peningkatan kemakmuran, perubahan pola makan dan kurangnya aktivitas fisik. Perubahan pola makan disebabkan konsumsi karbohidrat dan lemak yang tinggi, kurangnya aktifitas fisik yang mengakibatkan kegemukan dan hipertensi. Disamping faktor risiko diatas terdapat pula faktor risiko yang tidak bisa dikendalikan, seperti umur, jenis kelamin, faktor genetik yang cukup berpengaruh dalam meningkatkan angka kejadian.

Menurut perkiraan WHO, pasien diabetes di Indonesia juga mengalami kenaikan dari 8,4 juta jiwa pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta jiwa pada tahun 2030. Tingginya angka kesakitan tersebut menjadikan Indonesia menduduki ranking ke-4 dunia setelah Amerika Serikat, India, dan China (Diabetes Care 2004). Sedangkan hasil Riset kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diperoleh bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%. Dan daerah pedesaan, DM menduduki

ranking ke-6 yaitu 5,8%. Sumatera Barat di perkirakan 1,5% dari jumlah total penduduk menderita DM (Suyono, 2006 : Depkes, 2007).

Prevalensi DM untuk semua kelompok usia di seluruh Dunia diperkirakan 2,8% pada tahun 2000 dan naik menjadi 4,4% pada tahun 2030. Jumlah penderita DM diproyeksikan meningkat dari 171 juta pada tahun 2000 menjadi 366 juta pada tahun 2030. Untuk Indonesia WHO memprediksi jumlah penderita DM pada tahun 2000 sebanyak 8,4 juta meningkat menjadi 21,3 juta pada tahun 2030. Dari data pusat statistik tahun 2003 diperkirakan jumlah penderita DM di daerah urban sekitar 8,2 juta sedangkan di daerah rural sekitar 5,5 juta. Di Sumatera Barat prevalensi DM sebesar 5,2%, prevalensi prediabetes 9,0%. Prevalensi prediabetes lebih tinggi pada populasi turunan diabetes yakni sekitar 15,0% (Melvin, 2005; Suyono, 2006; Manaf dan Syaiful Azmi, 2007)

Dari semua kasus DM, DM tipe 2 merupakan kasus yang terbanyak yaitu 90-95% dari kasus total DM (Nuradianti *et al.*, 2010). Penderita DM tipe 2 mempunyai pola familial yang kuat. DM tipe 2 ditandai dengan kelainan dalam sekresi insulin maupun dalam kerja insulin.

Berdasarkan etiologi, pada DM tipe 2 terjadi dua hal utama yaitu 1) Defek sekresi insulin (defisiensi insulin) yang terjadi pada sindroma DM akibat faktor yang didapat atau dari bakat genetik yang diturunkan. 2) Defek aksi insulin (resistensi insulin). Masing-masing mencerminkan fungsi sel beta pankreas dan respon jaringan tubuh terhadap insulin, dua faktor penting sebagai etiologi DM tipe 2 adalah *beta cell dysfunction* dan *insulin resistance*, merupakan defek genetik yang dibawa sejak lahir. Seiring dengan perjalanan waktu, kedua faktor etiologi bawaan ini akan mengalami perburukan. Proses perburukan tersebut pada umumnya mengalami percepatan akibat pengaruh faktor lingkungan (environment) yang tidak baik. Hiperglikemia cenderung menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif disebabkan

meningkatnya pembentukan radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk meredamnya (Rossenbloom *et al.*, 1999; Roguel and Vello, 2001; Manaf, 2004).

Peningkatan produksi radikal bebas pada diabetes melitus terjadi melalui tiga mekanisme (Suryohudoyo, 2000) yaitu, 1) *Polyol pathway* (Peningkatan aktifitas jalur poliol). 2) Pembentukan glikosilasi protein. Glikosilasi menyebabkan ikatan *irreversibel* glukosa dengan molekul protein. Meskipun glikosilasi selalu terjadi di dalam tubuh manusia, reaksi ini akan meningkat ketika terjadi peningkatan kadar glukosa darah. *Glycocylation of haemoglobin* (HbA1c) dalam darah merupakan parameter sebagai bentuk pengendalian glukosa darah. HbA1c merupakan hasil glikosilasi hemoglobin yang dapat bertahan dalam darah, yakni sekitar 3 bulan sesuai dengan umur eritrosit. Kadar HbA1c merupakan cerminan dari keterkendalian glukosa darah untuk periode waktu yang relatif lama. 3) *Advance Glycosylation End Products* (AGEs) merupakan salah satu penanda modifikasi protein akibat reaksi glukosa dengan asam amino. Akumulasi AGEs di berbagai jaringan merupakan sumber utama radikal bebas sehingga mampu berperan dalam peningkatan stres oksidatif. Akibat ROS yang terbentuk berlebihan, maka akan terjadi kerusakan di sel beta pankreas, sehingga akan memperparah hiperglikemia. (Robert, 2000; Xiao, 2003; Nigun *et al.*, 2006)

Hiperglikemia merupakan titik sentral yang memegang peran kunci timbulnya kerusakan jaringan tubuh penderita diabetes. Pada stadium pra diabetes terjadi hiperglikemia akut postprandial (HAP), yakni lonjakan-lonjakan kadar glukosa darah yang terjadi berulang-ulang setiap mengkonsumsi makanan, menjadi penyebab kerusakan jaringan tubuh (Gerbitz *et al.*, 1996; Xiao, 2003)

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, riset mengenai pengobatan dan pencegahan DM sudah difokuskan pada mekanisme stres oksidatif, seperti halnya pencegahan dengan

menggunakan antioksidan untuk mengantisipasi efek radikal bebas dan kemungkinan terjadinya komplikasi (Setiawan dan Eko S, 2005). Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan. Berdasarkan sumbernya antioksidan ada 2, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen berasal dari dalam tubuh sendiri, terdiri dari antioksidan enzimatik seperti Super Oksida Dismutase (SOD), Glutation peroksidase (GSH Px), glutathion reduktase (GR) dan katalase, serta antioksidan non enzimatik seperti Vitamin A, C, E, dll (Papas A M, 1999).

Katalase sebagai antioksidan endogen memiliki peran utama dalam mengontrol konsentrasi  $H_2O_2$ . Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) adalah produk sampingan dari banyak proses metabolisme normal dalam tubuh dan juga terbentuk dari anion superoksida oleh aksi dismutase superoksida (Goth L, Lenkey Á, Bigler WN. 2001; Muchtadi, 2009). Katalase melindungi sel-sel  $\beta$ -pankreas dari kerusakan oleh  $H_2O_2$ . Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) merupakan sumber toksik berbagai macam penyakit karena dapat bereaksi menimbulkan kerusakan jaringan. Selain itu  $H_2O_2$  dianggap sebagai metabolit kunci karena stabilitasnya relatif tinggi, cepat menyebar dan terlibat dalam sirkulasi sel (Murray R K *et al*, 2009). Katalase berperan sebagai enzim peroksidasi khusus dalam reaksi dekomposisi hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air, sehingga bersifat non toksik. Sel-sel yang mengandung katalase dalam jumlah sedikit sangat rentan terhadap peroksida. Oleh karena itu katalase berperan penting dalam mekanisme pertahanan sel darah merah terhadap serangan hidrogen peroksida (Bothan K M, Mayes P A, 2006).

Aktifitas enzim katalase di induksi oleh Fe, asupan Fe yang memadai mampu menginduksi aktivitas katalase (Wijaya A, 1996). Dawson-Hughes *et al* (1986) berpendapat bahwa rendahnya status Fe tubuh berdampak negatif pada aktivitas enzim katalase (Hery W, 2005). Sebaliknya

fat molekul besi yang tidak stabil berpotensi menghasilkan berbagai bentuk radikal bebas yang dapat membahayakan kerusakan sel  $\beta$  pankreas (Saifuddin M, 2011).

Penelitian yang dilakukan di Rumania tahun 2004 pada 315 pasien diabetes dengan komplikasi stroke iskemik terhadap tingkat peroksidasi lipid plasma dan aktivitas katalase plasma, didapatkan hasil terjadinya penurunan aktivitas katalase plasma pada pasien diabetes dengan stroke dibandingkan dengan pasien diabetes tanpa stroke. Dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada pasien diabetes terjadi peningkatan kerusakan oksidatif.

Berdasarkan latar belakang di atas dan mengingat banyaknya efek yang ditimbulkan akibat meningkatnya radikal bebas pada pasien DM tipe 2, maka peranan katalase dan Fe sebagai antioksidan endogen menjadi suatu hal yang perlu diperhatikan, Oleh sebab itu penulis tertarik untuk meneliti tentang hubungan Glycosilated Haemoglobin dengan kadar Fe dan aktivitas katalase pada penderita Diabetes Melitus Tipe 2

### **.Perumusan Masalah**

Apakah ada hubungan Glycosilated Haemoglobin dengan kadar Fe dan aktivitas katalase pada penderita Diabetes Melitus tipe 2

### **.Tinjauan Pustaka**

#### **Diabete Melitus Tipe 2 (DM Tipe 2)**

DM tipe 2 bervariasi mulai yang terutama dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang terutama defek sekresi insulin disertai resistensi insulin. Penderita DM tipe 2 mempunyai tiga kondisi abnormal yang mungkin dimiliki. Pertama, mutlak kekurangan insulin dalam arti sekresi hormon insulin berkurang karena kerusakan sel-sel beta pankreas. Kedua, relatif kekurangan insulin dimana sekresi insulin tidak mencukupi dengan



adanya kebutuhan metabolisme yang meningkat (misalnya pada pasien yang kelebihan berat badan). Ketiga, resisten insulin karena penggunaan insulin perifer yang kurang sempurna.

Diabetes melitus tipe 2 (DM tipe 2) merupakan jenis diabetes melitus yang paling sering ditemukan diperkirakan diderita oleh lebih kurang 90% dari semua penderita DM di Indonesia. Lebih kurang 50% penderita sering tidak terdiagnosis karena hiperglikemia meningkat secara perlahan-lahan sehingga tidak memberi keluhan (John.,2000; Tjokroprawiro ,2001)

Pada pasien-pasien dengan DM tipe 2, terdapat pola familial yang kuat. DM tipe 2 ditandai dengan kelainan dalam sekresi insulin maupun dalam kerja insulin. Pada awalnya tampaknya terdapat resistensi dari sel-sel sasaran terhadap kerja insulin dalam keadaan normal. Insulin mula-mula mengikat dirinya kepada reseptor-reseptor permukaan sel tertentu, kemudian terjadi reaksi intraseluler yang meningkatkan transpor glukosa menembus membran sel. Pada pasien-pasien dengan DM tipe 2 terdapat kelainan dalam pengikatan insulin dengan reseptor. Ini dapat disebabkan oleh berkurangnya jumlah tempat reseptor yang responsif insulin pada membran sel. Akibatnya, terjadi penggabungan abnormal antara kompleks reseptor insulin dengan sistem transpor glukosa. Kadar glukosa normal dapat dipertahankan dalam waktu yang cukup lama dengan meningkatkan sekresi insulin, tetapi pada akhirnya sekresi insulin menurun, dan jumlah insulin yang beredar tidak lagi memadai untuk mempertahankan euglikemia (Schteingart, 1994; DeFronzo *et al.*,1997; Shiro *et al.*, 2001 )

Diagnosis klinis diabetes melitus pada umumnya akan dipikirkan bila ada keluhan khas berupa poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya. Keluhan lain yang mungkin dikemukakan pasien adalah lemah, kesemutan, gatal, mata kabur dan disfungsi ereksi pada pria, serta pruritus vulva pada pasien wanita. Jika keluhan

khas, pemeriksaan glukosa darah yang diambil secara sewaktu  $\geq 200$  mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis diabetes melitus. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dl juga digunakan untuk patokan diagnosis diabetes melitus( Soegondo,2002)

## 2. Komplikasi Akut Diabetes Melitus

Komplikasi akut Diabetes melitus meliputi :

-Meningkatnya kadar glukosa darah secara cepat

Hal ini disebabkan karena cacat molekul insulin atau defisiensi relatif insulin. Keadaan ini meningkatkan kadar glukosa di urin yang akan menyebabkan terjadinya kehilangan cairan dan elektrolit dalam jumlah yang besar melalui urin. Selain itu kurangnya kadar insulin akan menyebabkan penggunaan lemak sebagai sumber energi sehingga hal ini akan menghasilkan benda keton yang akhirnya akan dilepaskan ke darah. Benda keton mengakibatkan pH darah menjadi turun, suatu kondisi yang disebut ketoasidosis. asidosis yang ditandai dengan gejala rasa mual, muntah dan nyeri pada perut, bila tidak segera diatasi akan menyebabkan shock, koma ataupun kematian dalam waktu yang singkat. Sehubungan dengan terjadinya dehidrasi pada peningkatan kadar glukosa darah secara cepat akan mengakibatkan peningkatan osmolalitas darah (hiperosmolar). Keadaan ini akan mengakibatkan koma(koma hiperosmolar). Hiperosmolar koma lebih sering terjadi pada penderita DM tipe 2, sedangkan ketoasidosis lebih sering terjadi pada penderita DM tipe 2 dibandingkan DM tipe 2.

Rendahnya kadar glukosa darah(hipoglikemia) secara abnormal . Hal ini disebabkan oleh terlalu tingginya kadar insulin dalam darah ataupun oleh pemberian obat-obatan yang menurunkan kadar glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah yang terlalu cepat dapat menyebabkan koma, bahkan dapat menyebabkan kematian otak yang irreversible



(Xiao,2003;Cutler and Rodriquez,2003;Antonio.and Enrico,2004;Halliwell and Gutteridge,2004;Manaf,2007)

## 6. Glycosilated Haemoglobin (HbA1c)

Glycosilated Haemoglobin (HbA1c) terkandung dalam eritrosit yang hidup sekitar 100-120 hari, maka HbA1c mencerminkan pengendalian metabolisme glukosa selama 3-4 bulan. Eritrosit tua akan mengandung HbA1c lebih banyak dibandingkan eritrosit muda. Kecepatan pembentukan HbA1c tergantung secara langsung pada konsentrasi glukosa. Karena eritrosit permeabel dilalui oleh glukosa, maka pengukuran HbA1c mencerminkan keadaan glikemik selama masa 120 hari yaitu rata-rata masa hidup eritrosit. Waktu paruh HbA1c sekitar setengah dari masa hidup eritrosit yaitu 60 hari (2 bulan). Dengan demikian HbA1c digunakan untuk memantau keadaan glikemik untuk kurun waktu 3-4 bulan yang lampau (Depkes RI, 2005 : Lasdaukas M, 2008).

Nilai yang dianjurkan PERKENI untuk HbA1c (terkontrol) : 4.5%- 7.0 %. Jadi HbA1c penting untuk melihat apakah penatalaksanaan sudah adekuat atau belum. Sebaiknya, penentuan HbA1c ini dilakukan secara rutin tiap 3 bulan sekali. Peningkatan perentase HbA1c > 7 % mengindikasikan diabetes melitus yang tidak terkontrol, dan penderita beresiko tinggi mengalami komplikasi jangka panjang seperti nefropati, retinopati, neuropati dan kardiopati diabetik (Depkes RI, 2005).

## 7. Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan hasil dari ketidakseimbangan antara prooksidan (*Reactive Oxygen Species*) dan antioksidan (Agarwal AS, Gupta RK, Sharma, 2005). *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah radikal bebas dan senyawa yang mudah membentuk radikal bebas yang cenderung reaktif dan bereaksi dengan senyawa lain. Di dalam tubuh ROS cenderung bereaksi dengan cairan

berperan dalam proses respirasi sel, yaitu sebagai kofaktor bagi enzim yang terlibat di dalam reaksi oksidasi-reduksi(Almatsier, 2002).

Aktivitas enzim katalase di induksi oleh Fe. Asupan Fe yang memadai mampu menginduksi aktivitas katalase. Dawson-Hughes *et al* (1986) berpendapat bahwa rendahnya status Fe tubuh berdampak negatif pada aktivitas enzim katalase (Hery W, 2005).

Angka kecukupan besi yang dianjurkan menurut Widya Karya Pangan dan Gizi tahun 1998 untuk Indonesia adalah 13 mg untuk dewasa laki-laki dan 14-26 mg untuk dewasa perempuan. Sumber besi yang baik adalah makanan hewani, seperti daging, ayam dan ikan. Sumber baik lainnya adalah telur, sereal tumbuk, kacang-kacangan, sayuran hijau dan beberapa jenis buah. Sebaiknya diperhatikan kombinasi makanan sehari-hari, yang terdiri atas campuran sumber besi berasal dari hewan dan tumbuh-tumbuhan serta sumber gizi lain yang dapat membantu absorpsi. Kandungan besi beberapa bahan makanan dapat dilihat pada tabel 2.2 (Almatsier, 2002).

## **F. Tujuan Penelitian dan Manfaat Penelitian**

### **Tujuan Umum**

Mengetahui hubungan Glycosilated Haemoglobin dengan kadar Fe dan Aktivitas Katalase pada pasien Diabetes Melitus tipe 2.

### **Tujuan Khusus**

1. Mengetahui kadar Fe pada penderita diabetes melitus tipe 2 dan non DM
2. Mengetahui aktivitas katalase pada penderita diabetes melitus tipe 2 dan non DM
3. Mengetahui hubungan Glycosilated Haemoglobin dengan kadar Fe pada penderita Diabetes Melitus Tipe 2
4. Mengetahui hubungan Glycosilated Haemoglobin dengan aktivitas katalase pada

penderita diabetes melitus tipe 2

### **Manfaat Penelitian**

#### **Akademik :**

Untuk menambah pengetahuan mengenai peranan Fe dan aktivitas katalase dalam meredakan stres oksidatif yang dapat menyebabkan komplikasi penyakit Diabetes Melitus tipe 2.

#### **Klinis :**

Hasil penelitian ini bermanfaat sebagai pedoman bagi para klinisi dalam penatalaksanaan penyakit DM tipe 2.

### **Hipotesis Penelitian**

1. Terdapat hubungan HbA1c dengan kadar Fe pada pasien Diabetes Melitus tipe 2
2. Terdapat hubungan HbA1c dengan aktivitas katalase pada pasien Diabetes Melitus tipe 2

## **G. Metode Penelitian**

### **Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional study comparative*, dimana variabel dependen dan independen diperiksa dalam waktu yang bersamaan.

### **Lokasi dan Waktu Penelitian**

Lokasi penelitian dilakukan di 1). Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr. M.Jamil Padang, 2) Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unand. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus s/d September 2011.

### **Populasi dan Sampel**

#### **Populasi**

Populasi penelitian adalah seluruh pasien DM tipe 2 yang hiperglikemia ( $HbA1c > 7\%$ ), Gula Darah Puasa  $\geq 126$  mg%, Gula Darah 2 jam Post Prandial  $\geq 200$  mg%, yang menjalani rawat jalan maupun rawat inap di bagian Penyakit Dalam RSUP Dr.M.Jamil Padang.

### Sampel

Sampel penelitian adalah bagian dari populasi yang mempunyai kriteria inklusi dan eksklusi.

Sebagai kontrol adalah orang sehat yang tidak menderita DM.

### Besar Sampel

Jumlah sampel diambil dengan menggunakan rumus :

$$n1 = n2 = \frac{Z^2 \cdot P \cdot Q}{d^2} \quad (\text{kutipan Notoatmodjo S, 2002})$$

$n$  = besar sampel

$d$  = penyimpangan terhadap populasi

$Z$  = koefisien deviasi relative

$P$  = proporsi penyakit diabetes melitus

$Z = 1,96$

$P = 0,1$

$d = 10\%$

$Q = 1 - P \quad (1 - 0,1) = 0,9$

$n1 = n2 = \frac{(1,96)^2 \times 0,1 \times 0,9}{(0,1)^2}$

$n1 = n2 = 35$

Jumlah sampel minimal pada setiap kelompok adalah 35 orang.

### Cara Pengambilan Sampel

Objek penelitian adalah pasien DM tipe 2 yang tidak terkontrol yang hiperglikemia ( $HbA1c > 7\%$ ), Gula Darah Puasa  $\geq 126$  mgmg/dL, Gula Darah 2 jam *Post Prandial*  $\geq 200$  mg/dL.

Pengambilan sampel dilakukan secara random blok terhadap pasien DM tipe2 yang menjalani rawat jalan maupun rawat inap di bagian Penyakit Dalam RSUP Dr.M.Jamil Padang. Sebagai pembanding diambil kelompok kontrol yang tidak menderita DM. Pada setiap sampel diambil

darah vena sebanyak 10 ml. Pengukuran Kadar, Fe dan aktivitas katalase dilakukan terhadap serum.

### **Kriteria Inklusi dan Ekslusi**

#### **Kriteria Inklusi**

- Menderita DM tipe 2
- Umur berkisar antara 30 s/d 60 tahun
- Bersedia menanda tangani *informed consent*

#### **Kriteria Ekslusi**

Terdapat beberapa keadaan dimana subjek yang meskipun telah memenuhi kriteria, tetapi tidak dapat dimasukkan ke dalam penelitian, diantaranya menderita penyakit kronis lainnya seperti penyakit hati, ginjal atau paru kronis, menderita diare, dan mengkonsumsi suplemen zat besi, Vitamin E, dan Vitamin C

### **Variabel Penelitian**

#### **Variabel independen**

HbA1c

#### **Variabel dependen**

Kadar Fe

Aktivitas Katalase

### **Bahan dan Instrumen Penelitian**

#### **Bahan Penelitian**

Kit reagen HbA1c, Katalase, Fe

#### **Instrumen Penelitian**

Mikro pipet

Neraca analitik digital-Sartorius

pH meter

Sentrifuge :

- 230 volt.50/60Hz
- Drive : Brushless induction
- Speed range : 300 – 15.000 rpm
- Run time : 0-9 hours 59 mins
- Maximum capacity : 4x 400 ml atau 2x4 mikroplate
- Freezer -86°C
- Electrical : 230 volt/50 Hz

Pipet takar

Labu ukur

Magnetic stiker

Mikro pipet

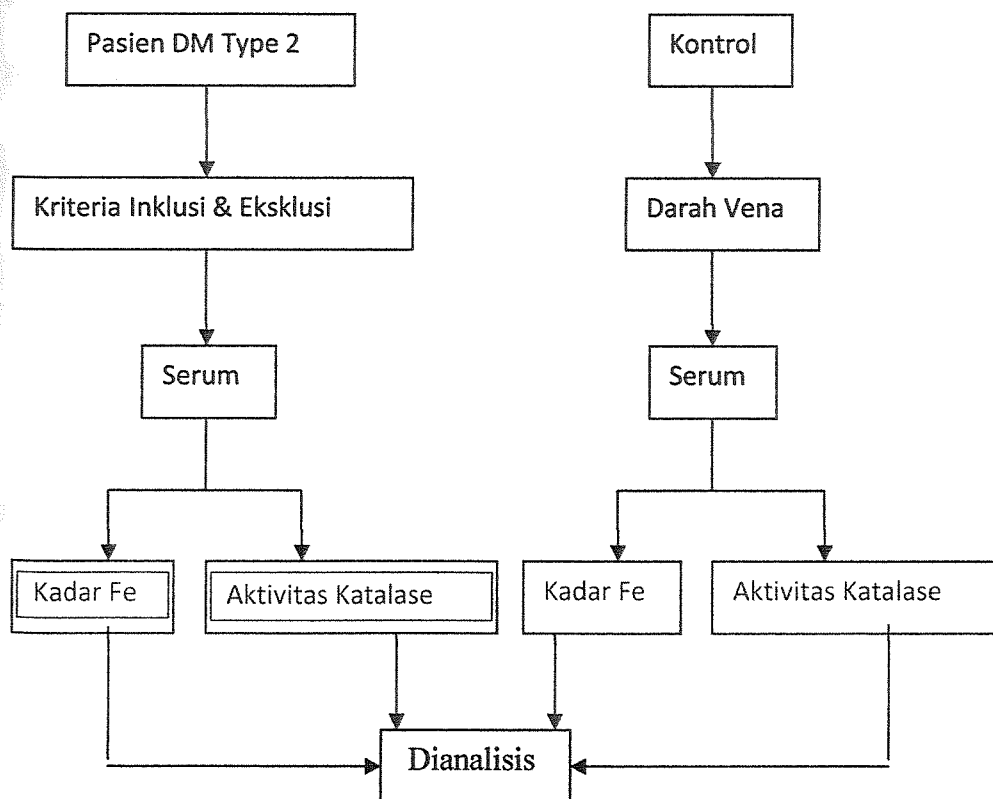
Ice bath

Mikro tube

### Persyaratan Etik Penelitian

Penelitian ini sudah melalui kaji etik di depan Tim Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang pada tanggal 15 Maret 2010, dan dinyatakan Lolos Kaji Etik dengan surat Keterangan Lolos Kaji Etik No. 021/KEP/FK/2009.

### K. Kerangka Operasional Penelitian





## **Prosedur Penelitian**

Semua pasien DM yang menjalani rawat jalan di Poli Klinik Khusus Endokrin Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr.M.Jamil Padang dengan persentase HbA1c > 7% adalah pasien DM tipe 2 tidak terkontrol, dijadikan sebagai populasi atau calon objek penelitian bagi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pada pasien DM tipe2 ini dilakukan wawancara untuk menjelaskan tujuan penelitian. Setelah penjelasan dan menyatakan persetujuan untuk ikut serta berpartisipasi dalam penelitian ini, maka pasien diberi formulir "*informed consent*".

Pengambilan sampel dilakukan secara random terhadap pasien DM tipe2. Sebagai kontrol yaitu orang yang tidak menderita DM. Setelah sampel didapat, maka diambil darah. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar Fe dan aktivitas katalase . Hal yang sama juga dilakukan pada kelompok kontrol.

## **Pemeriksaan Aktivitas Katalase**

Aktivitas katalase ditentukan dengan metode kolorimetri menggunakan alat spektrofotometer digital

### **Alat bahan :**

- Spektrofotometer UV-200RS atau V-200RS + Cuvet
- Water Bath
- Sentrifuge
- H<sub>2</sub>O
- Stopwatch

### **Reagen :**

- Campurkan 50 ml Potassium dichromate 5% dengan 150 ml Asetat glacial
- Persiapkan 0,2 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

- Persiapkan 250 ml Buffer Phospat pH 7.0 dengan konsentrasi 0,01 molar.

### Cara Penentuan Kadar Fe dalam Serum

Kadar Fe ditentukan dengan metode kolorimetri

Bahan dan Alat :

Serum

Kit serum Fe :

- Standar
- Reagen 1
- Reagen 2

Cara kerja :

- Siapkan Reagen kerja (Pipet 4 bagian R1 tambahkan 1 bagian reagen R2)
- Siapkan tabung untuk blanko, standar dan sampel sesuai urutan berikut

**Tabel 1 Prosedur Pemeriksaan Kadar Fe**

Reagen	Blanko	Standard	Sampel (1,2,dst )
Aquadest	200 $\mu$ l	-	-
Standard	-	200 $\mu$ l	-
Serum Sampel	-	-	200 $\mu$ l
Tambahkan Reagen kerja ke masing-masing tabung sebanyak 1 ml			
Campur sampai homogen			
Biarkan selama 5 menit pada suhu kamar			
Baca absorban dari setiap tabung dengan Spektrofotometer pada $\lambda$ 560 nm			

$$\text{Kalkulasikan : } C \text{ sampel} = \frac{\text{Absorban Sampel}}{\text{Absorban Standar}} \times C \text{ Standar } (\mu\text{g/dl})$$

Catatan : Nilai normal kadar Fe laki-laki = 60 – 175  $\mu\text{g/dl}$

Nilai normal kadar Fe Perempuan = 50 – 170  $\mu\text{g/dl}$

### **Analisis Data**

Untuk membandingkan kadar Fe dan aktivitas katalase antara pasien DM dan Non DM menggunakan uji T. Sedangkan untuk menganalisis ada tidaknya hubungan hiperglikemia yang dilihat dari HbA1c dengan kadar Fe dalam serum dan Aktivitas katalase pada pasien DM tipe 2 menggunakan uji korelasi regresi.

### **L. HASIL PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan cross sectional study comparative terhadap pasien Diabetes Melitus tipe 2, dari keseluruhan pasien yang menjalani terapi rawat jalan maupun yang dirawat inap di Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr. M.Jamil Padang. Penelitian dilakukan terhadap pasien DM tipe 2 tidak terkontrol dengan kriteria kadar gula darah puasa dan gula darah 2 jam PP diatas normal, kadar gula darah yang tidak terkontrol ditentukan berdasarkan pemeriksaan HbA1c diatas normal ( $> 7\%$ ). Sebagai kontrol, pemeriksaan juga dilakukan pada 35 orang subjek yang sehat (non DM). Penelitian dilakukan bulan Agustus 2011 sampai September 2011.

## Karakteristik Responden Penelitian

**Tabel 2 Distribusi Frekuensi Responden Berdasarkan Jenis Kelamin**

Jenis kelamin	Diabetes Melitus Tipe 2		Non DM	
	Frekuensi	%	Frekuensi	%
Laki-Laki	19	54.3	19	54.3
Perempuan	16	45.7	16	45.7
Total	35	100	35	100

Berdasarkan tabel 2 diatas jenis kelamin pasien Diabetes Melitus Tipe 2 yang diteliti dan kelompok non DM terdiri dari 19 orang laki-laki (54,3%) dan perempuan 16 orang (45,7%). Berdasarkan jenis kelamin antara kelompok DM tipe 2 dan non DM sudah setara, sehingga variabel jenis kelamin tidak mengganggu.

**Tabel 3 Rerata Umur Responden Pasien DM Tipe 2 dan Non DM**

Karakteristik	Rerata±SD		p
	DM	Non DM	
Umur (tahun)	52,51±4,44	49,63±5,74	0,021

Pada Tabel 3 terlihat rata-rata umur pada kelompok pasien DM Tipe 2 adalah 52,51±4,44 tahun dan umur rata-rata pada kelompok Non DM adalah 49,63 ± 5,7 tahun. Setelah dilakukan uji statistik kedua kelompok umur pada pasien DM Tipe 2 dan Non DM didapatkan

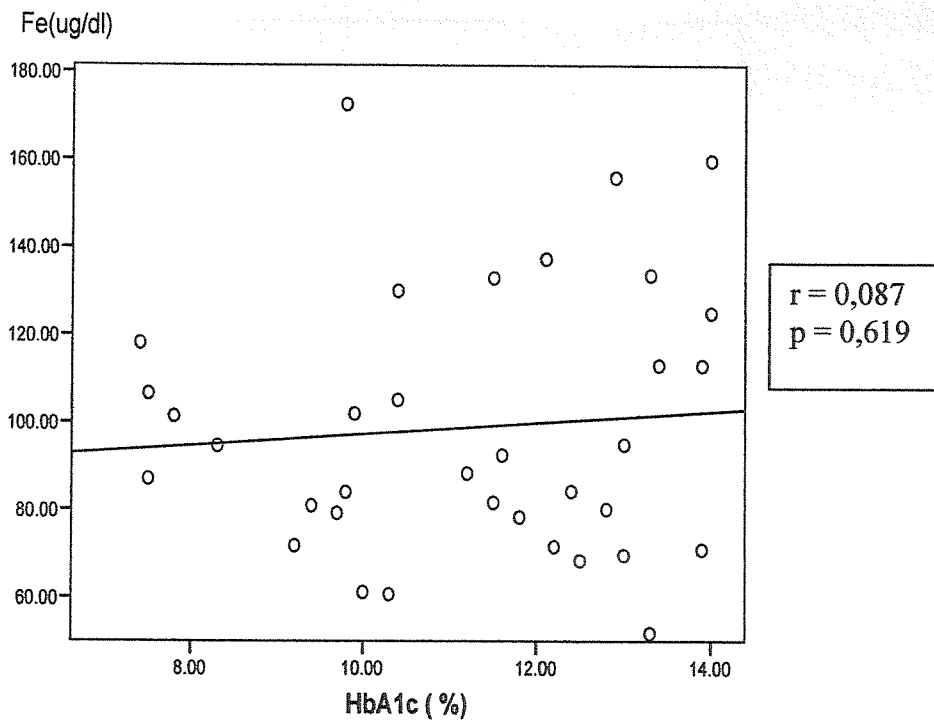
perbedaan yang bermakna dengan nilai  $p < 0,05$ . Karakteristik responden berdasarkan umur belum setara hal ini mungkin akan mempengaruhi hasil dari penelitian.

### Kadar Fe dan Aktivitas Katalase Pada Kelompok DM Tipe 2 dan non DM

**Tabel 4 Kadar Fe dan Aktifvitas Katalase pada kelompok DM tipe 2 dan non DM**

	Rerata $\pm$ SD		p
	DM	Non DM	
Kadar Fe ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	98,74 $\pm$ 30,05	118,59 $\pm$ 29,86	0,007
Aktivitas Katalase (unit/mg)	10,4 $\pm$ 8,25	6,64 $\pm$ 0,56	<0,001

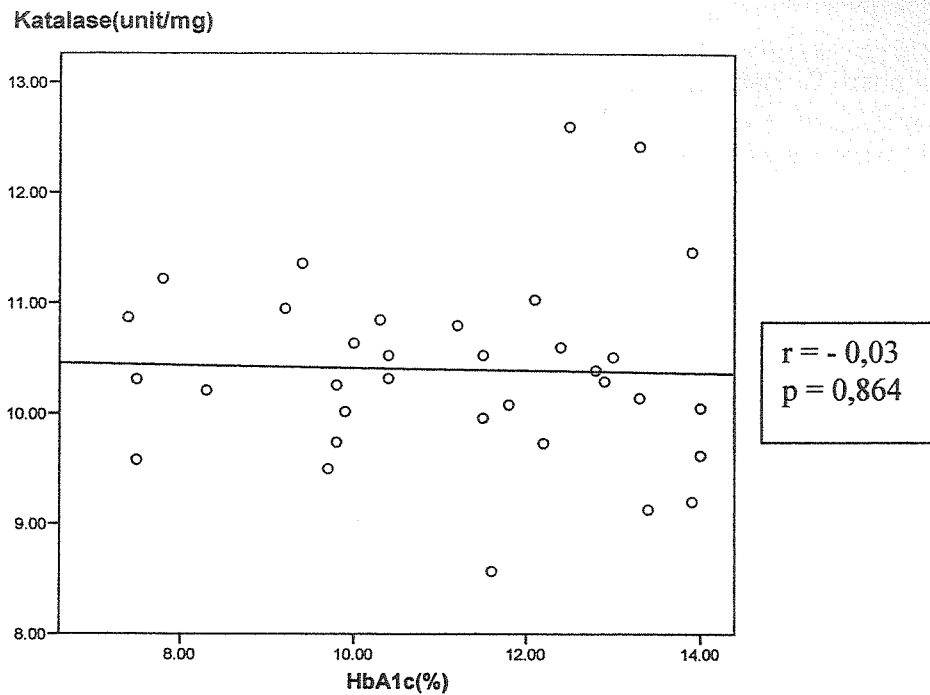
Pada tabel 4 terlihat kadar Fe pada kelompok DM adalah 98,74 $\pm$ 30,05  $\mu\text{g}/\text{dl}$ , lebih rendah secara bermakna dibandingkan dengan kelompok non DM yaitu 118,59 $\pm$ 29,86  $\mu\text{g}/\text{dl}$ , dengan nilai  $p = 0,007$ . Begitu juga dengan aktivitas katalase pada kelompok DM (10,4 $\pm$ 8,25 unit/mg) lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok non DM (6,64 $\pm$ 0,56 unit/mg) dengan nilai  $p < 0,05$ . Jika dibandingkan nilai normal, kadar Fe kelompok DM tipe 2 dan Non DM masih dalam batas normal (65 – 175  $\mu\text{g}$ ).



**Gambar 2** Korelasi HbA1c dengan Kadar Fe pada pasien DM tipe 2

Berdasarkan gambar 2 dapat dilihat semakin meningkat persentase HbA1c semakin meningkat kadar Fe. Analisis korelasi HbA1c dengan kadar Fe diperoleh korelasi positif lemah ( $r = 0,087$ ) dan tidak bermakna ( $p = 0,619$ ).





**Gambar 3** Korelasi HbA1c dengan aktivitas katalase pada pasien DM tipe 2

Berdasarkan gambar 3 dapat dilihat bahwa semakin meningkat persentase HbA1c semakin menurun aktivitas katalase. Analisis korelasi HbA1c dengan aktivitas katalase pada pasien DM tipe 2 diperoleh korelasi negatif lemah ( $r = -0,03$ ) dan tidak bermakna ( $p = 0,864$ ).

#### M. PEMBAHASAN

Resposden pada penelitian ini terdiri dari 35 orang pasien Diabetes melitus tipe 2 sebagai kelompok kasus dan 35 orang sebagai kelompok kontrol (non DM). Penelitian ini merupakan *cross sectional study comparative*, yaitu variabel dependen dan independen diperiksa pada waktu yang bersamaan.

### **Karakteristik Responden Penelitian**

Pasien DM tipe 2 pada kelompok kasus penelitian ini terdiri dari 19 orang laki-laki (54,3%) dan 16 orang perempuan (45,7%). Untuk kelompok non DM juga terdiri dari 19 laki-laki (54,3%) dan 16 orang perempuan (45,7%).

Umur rata-rata responden kelompok DM Tipe 2 adalah  $52,51 \pm 4,44$  tahun dan umur rata-rata pada kelompok Non DM adalah  $49,63 \pm 5,74$  tahun. Dari uji statistik yang dilakukan terdapat perbedaan yang bermakna pada kedua kelompok dengan nilai  $p = 0,021$  ( $p < 0,05$ ). Perbedaan yang bermakna antara kelompok DM dengan Non DM kemungkinan akan mempengaruhi hasil penelitian karena DM tipe 2 merupakan penyakit degeneratif, progresif dan muncul pada usia dewasa. Semakin bertambah usia kemampuan organ tubuh juga semakin berkurang.

### **Kadar Fe dan Aktivitas Katalase pada kelompok DM dan kelompok Non DM**

Berdasarkan tabel 4, kadar Fe pada pasien DM tipe 2 adalah  $98,74 \pm 30,05$   $\mu\text{g/dl}$ , lebih rendah secara bermakna dibandingkan dengan kelompok non DM, dan aktivitas katalase pada kelompok DM tipe 2 adalah  $10,4 \pm 8,25$  unit/mg lebih tinggi secara bermakna dibandingkan non DM. Pada pasien DM tipe 2 yang tidak terkontrol terjadi hiperglikemia. Hiperglikemia menyebabkan produksi radikal bebas meningkat sehingga memicu terjadinya stres oksidatif, yaitu suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas yang diproduksi melebihi kapasitas tubuh untuk menangkalnya (Syahbudin, 2000). Salah satu bentuk radikal bebas yang dihasilkan adalah Hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), merupakan senyawa toksik yang dapat terurai dengan mudah. Daya rusak  $\text{H}_2\text{O}_2$  bukan hanya karena senyawa tersebut merupakan oksidan yang kuat, tetapi juga karena  $\text{H}_2\text{O}_2$  dapat menghasilkan radikal hidroksil yang paling reaktif dan paling berbahaya. Untuk

## **N. Kesimpulan**

1. Terdapat perbedaan yang signifikan kadar Fe serum pasien DM tipe 2 lebih rendah dibandingkan non DM
2. Terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas katalase pasien DM tipe 2 lebih tinggi dibandingkan dengan non DM
3. Terdapat korelasi positif lemah antara HbA1c dengan kadar Fe pada pasien DM tipe 2.
4. Terdapat korelasi negatif lemah antara HbA1c dengan aktivitas katalase pada pasien DM tipe 2.

## **Saran**

1. Perlu dipertimbangkan pemberian zat Besi pada pasien DM tipe 2
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang hubungan hiperglikemia dengan kadar Fe dan aktivitas katalase pada pasien DM tipe 2 dengan memperhatikan beberapa faktor seperti intake zat besi jenis heme.

## DAFTAR PUSTAKA

- Antonio C, Enrico U, 2004. Oxidative Pathogenic Mechanism Underlying Insulin Resistance, Diabetes and Cardiovascular Disease J
- Agarwal A S, Gupta RK, Sharma, 2005. Role of Oksidative Stress in Female Reproduction, *Repro Biol & Endocrin*, 3:28
- Almatsier S, 2002. Prinsip Dasar Ilmu Gizi, Gramedia Pustaka Utama. Jakarta, 249-253
- Boon EM, Downs A, Marcey D, 2007. "Proposed Mechanism of Catalase". Catalase: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Oxidoreductase: Catalase Structural Tutorial. Diakses dari: <http://biology.kenyon.edu/BMB/Chime/catalase/frames/cattx.htm>.
- Brownlee M, 2005. The Pathology of Diabetic complication. A Unifying mechanism. *Diabetes J*: 54; 1615-1625
- Belchetz P, Peter H, 2003. Diabetes and Endocrinology. first published, Mosby, Edinburgh London New York Oxford Philadelphia ST Louis, Sydney Toronto.
- Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A *et al.*, 1991. Vitamin E reduction of protein glycosylation in Diabetes. New Prospect for prevention of diabetic complication. *Diabetes care J*: 14; 68-72
- Cutler R G, Rodriguez H, 2003. Oxidative Stress and Aging, *Advances in basic Science Diagnostic and Intervention*. Kronos Longevity research Institute, Arizona, USA; 166-189 ;491-494; National Institute of standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA; 1
- Chertow B, 2004. Advance in diabetes for the Millenium: Vitamins and oxidant stress in Diabetes and its Complication. Marshall University Huntington.
- Christianto T, 2000. Radikal Bebas dan Diabetes Mellitus, *Pertemuan ilmiah Berkala I Ilmu Penyakit Dalam*.
- DeFronzo RA, Bonadonna RC and Ferrannini E, 1997. Pathogenesis of NIDDM Inc International Textbook of Diabetes mellitus. ed. Alberti KGMM, Zimmet P, DeFronzo, Keen H v.1, 2<sup>th</sup> ed, John Willey & S, Chichester
- Djokomoeljanto R, 2007. Neuropati Diabetik. Dalam Naskah lengkap diabetes mellitus ditinjau dari berbagai aspek penyakit dalam. Editor: Darmono, Suhartono T, Pemayun TGD, Padmodarmono FS. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro. 4-9.
- Endang P, 2007. Metode evaluasi antioksidan secara in vitro dan in vivo, *Fak. Teknologi pertanian, IPB*
- Evans M *et al.*, 2000. Ciprofibrate Therapy Improves Endothelial Function and Reduces Postprandial lipemia and Oxidative Stress in type 2 diabetes mellitus. Department of

diabetes and Endocrinology University Hospital of wales American heart association J: 101; 1773-1779

Gustaviani R, 2006. Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal.1879 – 1881.

Gerbitz KD, Gempel K and Brdiczka D ,1996.Mitokondria and diabetes Genetic, biochemical and clinical implication of the cellular energy unit Diabetes :45;13-126

Halliwell,1991. Biochemistry of oxigen species in living system.Katzung BG. Basic and clinical pathology. The McGraw – Hill Companies; 2004; 274 – 275.

Halliwell B, Gutteridge,2004., Free radicals in Biology and Medicine. Department of Biochemistry ,Osaka University Medical School,Osaka,Thrird ed ; oxford University Press, 36-95; 267-276; 640-645.

Jonas JC, Sharma A, Hasenkamp W *et al*, 1999. Chronic hyperglycemia triggers loss of pancreatic Biological Chemistry: 274; 14112-14121

Johansen J S, Harris AK, Richly DJ, Ergul A. 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol. Diakses dari <http://www.pubmedcentral.nih.gov/torender.fcgi?iid>. Pada tanggal 12 Juni 2011.

Jusman SWA,1999. Konsep-Konsep Dasar Biokimia Dalam Diabetes Mellitus Dalam understanding icular diabetic-basic science, clinical aspect and didactic course. FKUI:1-15.

Kalaivanam.K.N, Mala.D, Sera.R.M, 2006. Lipid peroxida in Type 2 Diabetes Mellitus. Int..Diab J: 26 (1); 30-32

Khouri. H, Collin F, *et al*, 2004. Radical Induced Oxidation of Metformin. Eur Biochem J: 271; 4745-4752

Lautan J. Radikal bebas pada eritrosit dan leukosit. CDK; 1997.;49 – 52.

Liu QY, Tornheim K, Leahy JL,1998. Shared Biochemical properties of glucotoxicity and lipotoxicity in islet decrease citrat cinthase activity and increase phosphofruktokinase activity. Diabetes J: 47;1889-1893

Loetan F,1997. Diabetes melitus. Kedokteran Pacific Internet, 25 Desember 1997.

Monnier L,Mas E,Ginet C *et al*, 2006. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuation compared with sustained chronic hyperglycemia in patient with tipe 2 diabetes. JAMA :295; 1681-1687

- Manaf A, 2007. Chronic Acute Postprandial Hyperglycemia with Stress Oxidative : The Backround of Tissue Damage in Type 2 Diabetes Mellitus. Pertemuan Ilmiah Berkala VIII Ilmu Penyakit Dalam, Pangeran Beach Hotel, Padang 8-9 September
- Manaf A, 2004. Pengendalian Hiperglikemia Akut Postprandial dalam upaya Menghambat Progresi Resistensi Insulin pada Individu dengan Toleransi glukosa terganggu. Disertasi Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya; 13-24
- Michael. E.J *et al*, 1999. Dietary Flavonol Protect Diabetic Human Lymphocytes Against Oxidative Damage to DNA. *Diabetic J*; 48
- Murray R K *et al.*, 2009, *Harper's Biochemistry*. Ed 27 , diterjemahkan : Brahm U dalam biokimia Harper. EGC, Jakarta 103,135,640
- Murray RK, Grammer DK, *et al.* *Harper's Biochemistry*. Jakarta: EGC; 2002.
- M E Tushuizen, M D, R J Heine, 2006. Postprandial dysmetabolism and cardiovascular Disease in type 2 diabetes. *Postgrad.Med J*;81;1-6
- Mangino J, 1997. Quality Assurance and Quality Control. International panel on Climate Change (IPCC), 1:8.8-17
- Michael B, 2003. A Radical Explanation for Glucose-Induced beta Cell Dysfunction, Diabetes Research Center, Albert Einstein College of medicine J, New York, USA, December :112(12);1788-1790
- Machlin L.J , Bendich.A, 1987. Free radical Tissue Damage: Protective role of Antioksidant Nutrients. *Clinical nutrition J, Hofman Roche Inc, Nutley, New Jensey 07110*: 1; 441-445
- Notoatmodjo S, 2002. *Metodologi Penelitian kesehatan*. Rineka cipta, Jakarta , 91-92.
- Nigun .A, Aylin,S.D, Cemile.K, 2006. Diabetes Mellitus Oxidative stress. *Turk Biyokimiya Dergesi*: 31 (2);55-56
- Papas, A M, 1999. *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*, p 3-32, CRC Press Washington DC.
- Perkumpulan Endocrinologi Indonesia, 2002. *Konsensus Penatalaksanaan Diabetes melitus tipe 2 di Indonesia*
- PERKENI, 2004. *Konsensus pengelolaan diabetes melitus di Indonesia*. Jakarta.
- Price SA, Wilson LM, 1995. *Patofisiologi konsep klinik proses – proses penyakit*. Jakarta: EGC; 1109 – 1119.
- Reusch JEB, 2003. Diabetes, Microvascular complication, and cardiovascular complication: what is about glucose ? *clin invest J*: 112; 986-988



- Robert KM; Daryl KG; Peter AM; *et al*, 2003. Oksidasi Biologi. Dalam Buku Biokimia Harper. Edisi 25. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. 123.
- Rodney C.R, Roger B M, 2001. Use of Antioxidant Nutrient in the Prevention and Treatment of type 2 diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*: 20( 5); 363S-369S
- Russel J W *et al*, 2002. High glucose induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurons. *Faseb J*:16 ; 1738- 1748
- Slamet Suyono, 2006. Diabetes Melitus di Indonesia. Dalam Ilmu Penyakit Dalam Jilid III. Edisi Keempat. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal 1874-1875.
- Sauriasari R. Mengenal dan menangkal radikal bebas. *Berita Iptek*, 22 Januari 2006. diakses dari: [www.berita iptek.com/kesehatan/radikal bebas](http://www.berita iptek.com/kesehatan/radikal bebas)
- Setiawan B, Suhartono E, 2005. Stres oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*: 55; 86 – 91.
- Sianturi G, 2005. Kelebihan karbohidrat penyebab diabetes. *Suara Pembaruan*, Diakses tgl 21 April dari: [www.gizi.net/diabetesmelitus/penyebab](http://www.gizi.net/diabetesmelitus/penyebab)
- Suharmiati. Pengujian bioaktivitas anti diabetes melitus tumbuhan obat. *Cermin Dunia Kedokteran* no 140; 2003. hal.8 – 13.
- Soegondo S, Soewondo P, Subekti I, 2002 *Penatalaksanaan diabetes melitus terpadu*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Sofia D. Antioksidan dan radikal bebas; 2007. Diakses dari: [www.chem-is-try.org/free radical/](http://www.chem-is-try.org/free radical/)
- So W Y *et al*, 2000. Genetic og type 2 diabetes mellitus. *HKM J*: 6 (1); 69-76
- Supari SF. Diabetes melitus masalah kesehatan yang serius. *Dialog interaktif*, 8 Juni 2005. Jakarta; 2005. Diakses dari [www.depkes.go.id/diabetesmelitus](http://www.depkes.go.id/diabetesmelitus)
- Sauriasari R, 2006. Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas. *Artikel Iptek Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan*
- Setiawan B dan Eko Suhartono , 2005. Stress Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Mellitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*, Vol 55, No 2, hal 87-90.
- Sudarmadji S, 1996. *Teknik Analisa Biokimia*, Penerbit Liberty, Yogyakarta
- Suryohudoyo P, 2007. *Oksidan dan Radikal Bebas*. *Kapita Selektta Ilmu Kedokteran molekuler* ed.2
- Suyono , 2006. Kecenderungan Peningkatan Jumlah Penyandang Diabetes, dalam *Penatalaksanaan Diabetes Terpadu, 1-4*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Syahbuddin, 2000. Peran Radikal Bebas dan Antioksidan pada Proses Penuaan pada DM. Naskah Lengkap Simposium Pengaruh Radika Bebas Terhadap Penuaan daam Rangka ustrum IX Fakultas Kedokteran Universitas Andaas Padang 7 September 1055-2000
- Schteingart DE, 1995. Metabolisme Glukosa dalam Diabetes Melitus. Dalam (Price SA, Wilson LM,ed) Patifisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 4 Buku II. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal 1111-1115.
- Shiro.U *et al*, 2001.Diabetes Mellitus Enhances Vascular Matrix Metalloproteinase ,Activity, American Heart Assosiation .Inc, April 25: 88; 1291- 1298
- Sulistiyowati Tuminah, 2000. Radikal Bebas dan Antioksidan. Majalah Cermin Dunia Kedokteran, No 128.Diakses dari [http //:www.kimiafarma.com](http://www.kimiafarma.com)
- Syahbudin Syafril, 2000. Peran Radikal Bebas dan Antioksidan pada Proses Penuaan pada Diabetes Melitus. Naskah Lengkap Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Penuaan dalam Rangka Lustrum IX Fakultas Kedokteran universitas Andalas Padang 7 September 1955-2000.
- Surekha R.H,*et al*,2005. Risk factors for Coronary Heart Disease in Type II Diabetes Mellitus. Dept of Cell Biology, Institute of Genetics amd Hospital for Genetic Diseases,Osmania University Begumpel,Hyderabad:20 (2); 75-80
- Sharma A, Kharb S , Chugh SN,*et al*, 2000.Evaluation of Oxidative Stress before and After control of glycemia and after vitamin E Supplementation in Diabetic patients, *Metabolism*:49(2); 160-162
- Tjokroprawiro A,2001 .Diabetes melitus klasifikasi, diagnosis, dan terapi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Udoh A *et al*, 2007. Red Cell Activity in Diabetics, *Pakistan Journal of Nutrition*, volume 6 page 511-515
- Velho G *et al* ,1996 , Clinical phenotypes,insulin secretion,and insulin sensityvity in kinds with maternaly inherited diabetes and defness due to mitochondrial tRNALeu (UUR) gene mutation. *Diabetes J*: 45;478-487
- Walford G and Loscalzo, 2003, Nitric Oxide in Vascular biology. *Journal of Thrombosis and haemostasis*: 1; 2112-2118
- Waspadji S, 2006. Komplikasi Kronik Diabetes, mekanisme terjadinya, diagnosis dan strategi pengelolaannya. Dalam Sudoyo AW,Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam IV jilid III, Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.hal 1884.
- WY So,MCY Ng *et al*, 2000. Genetic of type 2 diabetes mellitus. *HKMJ*: 6(1) March ; 69-76.