

**HUBUNGAN DURASI MENGALAMI DIABETES MELITUS TIPE 2 DENGAN
MEMORI SPASIAL MENGGUNAKAN UJI *MORRIS WATER MAZE* PADA
TIKUS REMAJA YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK DAN
*STREPTOZOTOCIN***

Karya Tulis Ilmiah

untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

**Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONEISA
YOGYAKARTA
2020**

**RELATIONSHIP OF TYPE 2 DIABETES MELITUS DURATION WITH SPATIAL
MEMORY USING MORRIS WATER MAZE TEST ON ADOLESCENT RAT
INDUCED HIGH FAT DIET AND STREPTOZOTOCIN**

Scientific Writing

as A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Undergraduate Program in Medicine



by :

Intan Susmita Rafsanjani

16711175

**FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2020

HALAMAN PENGESAHAN

**HUBUNGAN DURASI MENGALAMI DIABETES MELITUS TIPE 2 DENGAN
MEMORI SPASIAL MENGGUNAKAN UJI *MORRIS WATER MAZE* PADA
TIKUS REMAJA YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK DAN
*STREPTOZOTOCIN***

Disusun dan diajukan oleh:



Disahkan oleh:



PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmaanirrahiim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Intan Susmita Rafsanjani
NIM : 16711175
Judul KTI : Hubungan Durasi Mengalami Diabetes Melitus Tipe 2 dengan Memori Spasial Menggunakan Uji *Morris Water Maze* pada Tikus Remaja yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan *Streptozotocin*

Dosen Pembimbing : dr.Miranti Dewi Pramaningtyas,M.Sc

Dengan ini menyatakan bahwa :

Memberi Ijin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII, berupa :

- ~~Laporan KTI (full text)~~
- Abstrak saja
(coret yang tidak diperlukan)

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 10 November 2020

Dosen Pembimbing

Yang Menyatakan



dr.Miranti Dewi Pramaningtyas,M.Sc
NIK 05061283

Intan Susmita Rafsanjani
NIM 16711175

DAFTAR ISI

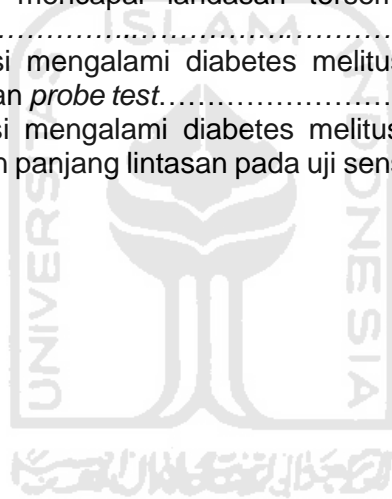
HALAMAN JUDUL(BAHASA INDONESIA).....	i
HALAMAN JUDUL(BAHASA INGRIS).....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN PUBLIKASI	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
PERNYATAAN	viii
KATA PENGANTAR	ix
INTISARI	xi
ABSTRACT	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Keaslian Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
1.6 Hipotesis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Diabetes Melitus Tipe 2.....	5
2.2 Durasi Diabetes Melitus Tipe 2.....	7
2.3 Memori Spasial Menggunakan <i>Morris Water Maze</i>	8
2.4 Hubungan Diabetes Melitus dengan Memori Spasial	10
2.5 Model Tikus Diabetes melitus tipe 2 Remaja	11
2.6 Kerangka Teori.....	13
2.7 Kerangka Konsep.....	14
BAB III. METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Jenis dan desain penelitian	15
3.2 Tempat dan Waktu penelitian	15
3.3 Populasi dan Subyek penelitian.....	15
3.4. Identifikasi Variabel	16
3.5. Definisi Operasional	16
3.6. Instrumen Penelitian.....	17
3.7. Alur Penelitian	18
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil	25
4.2 Pembahasan	34
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian	3
Tabel 2. Komposisi Diet Tinggi Lemak.....	17
Tabel 3. Karakteristik Subjek Setelah Induksi dengan Diet Tinggi Lemak.....	25
Tabel 4. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus Sebelum dan Sesudah Diberikan Intervensi Diet Tinggi Lemak.....	26
Tabel 5. Hasil Pengukuran Berat Badan Antar Kelompok Setelah Induksi Diet Tinggi Lemak.....	27
Tabel 6. Hasil Pengukuran Gula Darah Puasa Sesudah Induksi <i>Streptozotocin</i>	27
Tabel 7. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap <i>escape latency acquisition test</i> setelah di induksi diabetes melitus tipe 2.....	28
Tabel 8. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap persen <i>escape latency probe test</i>	29
Tabel 9. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap <i>escape latency</i> pada uji sensori motorik.....	30
Tabel 10. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok dengan panjang lintasan tikus mencapai landasan tersembunyi pada <i>acquisition test</i>	31
Tabel 11. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap persen panjang lintasan <i>probe test</i>	32
Tabel 12. Analisis <i>post hoc</i> pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap persen panjang lintasan <i>probe test</i>	32
Tabel 13. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap panjang lintasan pada uji sensori motorik.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe	6
Gambar 2. Proses sinyal insulin neuronal.....	11
Gambar 3. Kerangka teori penelitian.....	13
Gambar 4. Kerangka konsep penelitian.....	14
Gambar 5. Ilustrasi <i>Morris Water Maze</i>	22
Gambar 6. Skema Penelitian.....	23
Gambar 7. Alur Penelitian.....	24
Gambar 8. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan <i>escape latency acquisition test</i>	28
Gambar 9. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan persen <i>probe test</i>	29
Gambar 10. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok dengan mean <i>escape latency</i> pada uji sensori motorik.....	30
Gambar 11. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan panjang lintasan tikus mencapai landasan tersembunyi pada <i>acquisition test</i>	31
Gambar 12. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan persen panjang lintasan <i>probe test</i>	33
Gambar 13. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok dengan mean panjang lintasan pada uji sensori motorik.....	34



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 22 September 2020



Intan Susmita Rafsanjani



KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr.Wb.
Bismillahirrahmanirrahim*

Alhamdulillah rabbi 'alamin, segala puji syukur bagi Allah SWT yang telah memberi rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul "**Hubungan Durasi Mengalami Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Memori Spasial Menggunakan Uji *Morris Water Maze* Pada Tikus Remaja Yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak Dan *Streptozotocin***" dapat diselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kami dari zaman kegelapan hingga zaman yang terang benderang dan penuh hidayah seperti saat ini.

Karya Tulis Ilmiah ini sebagai syarat untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Strata 1 pada Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Selama proses penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak terlepas dari kendala dan kesulitan. Namun berkat bimbingan, lantunan doa, arahan serta pertolongan dari Allah dan tangan-tangan Allah melalui berbagai pihak kepada penulis, karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. dr. Linda Rosita, M. Kes, Sp.PK (K)., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah membantu penulis selama pendidikan preklinik
2. dr. Ummatul Khoiriyah, M. Med. Ed., Ph. D selaku ketua Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah membantu penulis selama pendidikan preklinik
3. dr. Lusiantari, M.Sc selaku dosen pembimbing akademik (DPA) yang telah membantu penulis selama pendidikan preklinik
4. dr. Miranti Dewi Pramaningtyas, M.Sc selaku dosen pembimbing karya tulis ilmiah yang telah membimbing penulis sejak awal masuk preklinik, memberikan nasihat dan masukan, serta telah banyak meluangkan waktunya untuk berdiskusi dan mengoreksi karya tulis ilmiah ini. Terimakasih atas segala wejangan, ilmu dan doa yang telah diberikan. Terimakasih yang luar biasa untuk jasa dokter yang selalu mensupport penulis, dengan kesibukan yang sangat padat, dokter tak pernah lelah mendengar keluhan dan selalu memberikan solusi dan bimbingan yang luar biasa hingga rampungnya penyusunan skripsi ini
5. dr. Titis Nurmasitoh, M.Sc selaku dosen penguji karya tulis ilmiah yang telah memberi kritik, waktu, ilmu, saran sehingga pembahasan skripsi menjadi lebih baik dan dukungan serta doa. Terimakasih untuk segala ilmu yang telah dokter berikan kepada penulis
6. Ibu Roichatun Chasanah selaku orang tua penulis yang telah mendukung proses pembuatan karya tulis ilmiah ini dalam bentuk doa, kasih sayang, kesabaran dan motivasi secara fisik maupun rohani sehingga dapat menyelesaikan proses pembuatan karya tulis ilmiah dengan baik dan lancar.
7. Bapak Eddy Santoso, S.Pd dan Ibu Khomla Nugraheni, S.E, M.Si selaku orang tua penulis yang telah mendukung proses pembuatan karya tulis ilmiah ini dalam bentuk doa, kasih sayang, kesabaran dan motivasi secara fisik maupun rohani sehingga dapat menyelesaikan proses pembuatan karya tulis ilmiah dengan baik dan lancar
8. Kakakku Ika Prasetya Malik Al-Chasan, S.E, Rengga Chasanal Mahardika,

S.Kom, Elvania Anindita, S.E dan adikku Tania Adila Putri, Jenny Kamilia Azahra dan Dinda Salsa Qotrun Nada yang selalu memberi semangat penulis untuk menjalani studi preklinik dengan baik

9. Seluruh anggota tim Diabetmania yang telah membantu, memotivasi dan berjuang bersama untuk menjalankan penelitian ini hingga selesai
10. Sahabat-sahabat terbaik yang selalu mendukung, menemani, memotivasi dan membantu penulis dalam penyusunan skripsi, Izzatul Alifah Sifa'i, Inmas Andi Sermoati, Amalia Indah F, Afifah Zahro, Lilis Suryani, Siti Wahdiyati, Hana Afifah Firdaus, Tika Minawati Dewi, Ariesta Irbah K, Dini Islamiana Rai Arini, dan Dosan Surya Sidharta yang selalu membantu penulis dari mulainya penelitian hingga selesainya penelitian serta membantu penulis dalam menyusun naskah skripsi
11. Seluruh teman-teman sejawat Acasha angkatan 2016 yang selalu membantu dengan berbagai macam bentuk selama proses perkuliahan
12. Semua pihak yang terlibat dalam penelitian dan membantu dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ilmiah ini bermanfaat bagi penulis, pembaca, dan bagi ilmu pengetahuan kedepannya.

Wassalamua'alaikum wr.wb

Yogyakarta, 22 September 2020



Intan Susmita Rafsanjani

HUBUNGAN DURASI MENGALAMI DIABETES MELITUS TIPE 2 DENGAN MEMORI SPASIAL MENGGUNAKAN UJI *MORRIS WATER MAZE* PADA TIKUS REMAJA YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK DAN *STREPTOZOTOCIN*

Intan Susmita Rafsanjani¹, Miranti Dewi Pramanintyas², Titis Nurmasitoh³

¹Mahasiswa Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

³Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

INTISARI

Latar Belakang: Angka kejadian diabetes melitus tipe 2 (DM tipe 2) pada remaja dan dewasa muda secara dramatis meningkat. Subjek dengan DM tipe 2 telah dilaporkan memiliki penurunan fungsi kognitif namun hal ini kurang diperhatikan. Jika onset penurunan fungsi kognitif atau memori terjadi pada usia muda akan mempengaruhi usia produktifitas dan memberikan efek merugikan pada kualitas hidupnya. Penelitian mengenai DM tipe 2 dikaitkan dengan penurunan kognisi dan memori pada umumnya dilakukan pada usia dewasa tua. Penelitian ini ingin melihat ada tidaknya hubungan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 terhadap memori spasial menggunakan *morris water maze* pada tikus remaja yang diinduksi *streptozotocin* dan diet tinggi lemak.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian *pre-posttest randomized group control*. Tikus jantan *spargue dawley* usia 3 minggu dengan berat badan 35-80mg diaklimatisasi selama 1 minggu. Model DM tipe 2 dibuat dengan STZ (35mg/kgBB) melalui injeksi intraperitoneal dan diet tinggi lemak (HFD) dengan komposisi 12% pelet standar, 58% lemak sapi (*beef tallow*), 10% kuning telur puyuh, dan 20% fruktosa tinggi (sirup jagung). HFD diberikan selama 14 hari. Setelah aklimatisasi pengukuran memori spasial dilakukan menggunakan *morris water maze* dan setelah induksi DM tipe 2 memori spasial diukur kembali menggunakan *morris water maze*.

Hasil: Pada *escape latency acquisition* tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok disemua *trail* dengan $p > 0,05$. Sedangkan panjang lintasan *acquisition test* menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok pada *trail* ke-3 dengan $p = 0,023$. Hasil analisis statistik pada persentase *escape latency probe test* menunjukkan $p = 0,067$. Namun pada persentase panjang lintasan *probe test* menunjukkan perbedaan yang signifikan bermkna antar kelompok dengan $p = 0,000$. Tidak terdapat hasil yang signifikan berbeda antar kelompok pada *escape latency* uji sensori motorik ($P = 0,171$). Begitu juga dengan panjang lintasan uji sensori motorik yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan $p = 0,197$.

Kesimpulan: Hubungan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 berhubungan dengan *escape latency acquisition test* pada *trail* ke-3 dan panjang lintasan *probe test* pada tikus remaja yang diinduksi *streptozotocin* dan diet tinggi lemak.

Kata kunci: Diabetes melitus tipe 2, Diet tinggi lemak, Memori spasial, *Morris Water Maze*, Tikus Remaja

ASSOCIATION OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS DURATION WITH SPATIAL MEMORY USING MORRIS WATER MAZE TEST ON ADOLESCENT RATS INDUCED BY HIGH-FAT DIET AND STREPTOZOTOCIN

Intan Susmita Rafsanjani¹, Miranti Dewi Pramanintyas², Titis Nurmasitoh³

¹Medical Student, Faculty of Medicine Islamic University of Indonesia

²Department of Psychology, Faculty of Medicine Islamic University of Indonesia

³Department of Psychology, Faculty of Medicine Islamic University of Indonesia

ABSTRACT

Background: The incidence of diabetes mellitus in adolescents and young adults has dramatically increased. Subjects with type 2 diabetes mellitus (DM type 2) have been reported to have decreased cognitive function but this has received little attention. If the onset of the decline in cognitive or memory function occurs at a young age it will affect the productive age and have a detrimental effect on the quality of life. Research on DM type 2 associated with decreased cognition and memory is generally carried out in older adults. This study wanted to see whether the duration of experiencing type 2 diabetes mellitus was related to spatial memory using the Morris water maze in adolescent rats induced by streptozotocin and a high-fat diet.

Methods: This study was a randomized control-group pretest-posttest design. 3-week-old sprague-dawley male Rat weighing 35-80mg were acclimatized for 1 week. Type 2 DM obtained with 35 mg of STZ Intraperitoneal injection (35 mg/kg BW) and a high-fat diet with a composition of 12% standard pellets, 58% beef tallow, 10% quail egg yolk, and 20% high fructose (corn syrup). A high-fat diet was given for 14 days. After acclimatization, spatial memory measurements were carried out using the Morris water maze and after induction of type 2 DM, the spatial memory was re-measured using the Morris water maze.

Results: In escape latency acquisition there was no significant difference between groups in all trails with $p > 0.05$. While the path length of the acquisition test showed a significant difference between groups on the 3rd trail with $p = 0.023$. The results of statistical analysis on the percentage of escape latency of the probe test showed $p = 0.067$. However, the percentage of path length of the probe test showed significant differences between groups with $p = 0.000$. There was no significant difference between groups on the escape latency of the morotic sensory test ($p = 0.171$). The path length analysis of the motor sensory showed no significant difference between groups with $p = 0.197$.

Conclusions: The relationship between duration of having type 2 diabetes mellitus was associated with the escape latency acquisition test on the 3rd trail and probe test path length in adolescent rats induced by streptozotocin and high-fat diet.

Keywords: Type 2 Diabetes Mellitus, High-Fat Diet, Spatial Memory, Morris Water Maze, Adolescent Rats

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit tidak menular dan salah satu yang paling menyebabkan kematian di dunia. Penyakit ini termasuk 4 besar penyumbang angka kematian setelah penyakit jantung, kanker dan penyakit pernapasan kronis. Pada tahun 2016, diabetes melitus menyebabkan 1.6 juta orang meninggal dunia. Angka kejadian diabetes melitus terus meningkat dari tahun ke tahun dan keadaan penyakit ini juga akan semakin parah dari hari ke hari. Jika telah terjadi komplikasi, usaha untuk menyembuhkan keadaan tersebut ke arah normal sangat sulit, kerusakan yang terjadi umumnya akan menetap. Meningkatnya insidensi diabetes melitus tipe 2 terjadi di sebagian besar negara. Prevalensi global diabetes diperkirakan mencapai 422 juta orang di seluruh dunia (WHO, 2019).

Studi epidemiologi di seluruh dunia cenderung menunjukkan terjadi peningkatan angka kejadian diabetes melitus terutama peningkatan pada penyandang diabetes melitus tipe 2. Berdasarkan survei dari Riset Kesehatan Daerah (2018), terjadi peningkatan angka insidensi berat badan lebih dan obesitas di Indonesia pada dewasa dengan usia lebih dari 18 tahun. Proporsi Berat badan lebih pada tahun 2007 sebesar 8.6% meningkat menjadi 13.6% pada tahun 2018. Kemudian obesitas dari 10.5% pada tahun 2007 meningkat menjadi 21.8% pada tahun 2018. Peningkatan kejadian berat badan lebih dan obesitas menjadi faktor resiko meningkatnya angka insidensi diabetes melitus tipe 2 (Buphatiraju & Hu, 2017).

International Diabetes Federation (IDF) pada tahun 2017, sekitar 425 juta orang dewasa (20-79 tahun) hidup dengan menderita diabetes melitus dan 212 juta orang tidak terdiagnosis. Diprediksi angka insiden ini akan meningkat mencapai 629 juta orang pada tahun 2045. Menurut WHO, jumlah penyandang diabetes melitus di Indonesia diperkirakan mengalami peningkatan dari 8.4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21.3 juta pada tahun 2030 dan meningkat 2-3 kali lipat pada tahun 2035. Di Indonesia, angka insidensi diabetes mellitus diprediksi meningkat dari 9.1 juta pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta pada tahun 2035 (Perkeni, 2015).

Berdasarkan survei dari Unit Kelompok Kerja (UKK) Endokrinologi Anak Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) penyandang Diabetes Melitus tipe 1 di Indonesia adalah 674 jiwa. Tahun 2011 tercatat 65 anak menderita Diabetes Melitus, naik 40% dibandingkan tahun 2009. Sejumlah 32 anak diantaranya terkena Diabetes Melitus tipe 2. Data lain dari sebuah penelitian unit kerja koordinasi endokrinologi anak di seluruh wilayah Indonesia pada awal Maret tahun 2012 menunjukkan jumlah penderita Diabetes Melitus usia anak-anak juga usia remaja dibawah 20 tahun terdata sebanyak 731 anak. (Perkeni, 2006). Menurut *International Diabetic Federation*, diperkirakan 23 juta dewasa muda yang berusia 20-39 tahun memiliki diabetes melitus tipe 2 (13% dari 177 juta dewasa yang memiliki diabetes melitus tipe 2. Pada tahun 2013 meningkat menjadi 63 juta (16% dari 382 juta total dewasa dengan diabetes melitus. Angka kejadian diabetes tipe 2 pada remaja dan dewasa muda secara dramatis meningkat. Faktor resiko predisposisi utama yaitu disebabkan oleh obesitas, riwayat keluarga dan gaya hidup sedenter (Lascar *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian menemukan hubungan diabetes melitus dengan penurunan fungsi kognitif dan perubahan struktur otak. Seseorang dengan diabetes melitus tipe 1 dan 2 menunjukkan penurunan kognitif dengan derajat ringan sampai sedang. Penurunan fungsi kognitif pada subjek dengan diabetes melitus tipe 2 berkaitan dengan peningkatan durasi diabetes dan kontrol glikemik yang buruk (Moheet *et al.*, 2015). Mekanisme patofisiologi diabetes melitus tipe 2 menginduksi penurunan kognitif tidak sepenuhnya diketahui. Beberapa studi menemukan kelainan struktur subkortikal pada pasien dengan diabetes melitus yang berhubungan dengan penurunan kognitif dikaitkan dengan kecepatan proses mental dan memori. Hal ini menunjukkan bahwa degenerasi di daerah ini dapat menjelaskan atas gangguan memori yang terjadi pada pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 (Zhang *et al.*, 2015). Onset penurunan fungsi kognitif dan memori yang terjadi pada penderita diabetes tipe 2 di usia muda akan mempengaruhi usia produktifnya dan memberikan efek merugikan pada kualitas hidupnya seperti efek pada kehidupan sosial, berdampak pada fisik dan kesehatan mental (John *et al.*, 2019).

Penelitian mengenai diabetes melitus tipe 2 yang dikaitkan dengan fungsi kognisi atau memori pada umumnya dilakukan pada usia dewasa tua, sedangkan pada usia dewasa tua sudah mulai terjadi proses penuaan yang menyebabkan penurunan fungsi organ dan fungsi kognisi sekalipun (Peters, 2006). Oleh karena itu, peneliti ingin melihat ada tidaknya hubungan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan memori spasial pada tikus remaja menggunakan uji *morris water maze* yang diinduksi diet tinggi lemak dan *streptozotocin*.

1.2 Perumusan Masalah

Apakah terdapat hubungan durasi menderita diabetes melitus tipe 2 dengan memori spasial menggunakan uji *morris water maze* pada tikus remaja yang diinduksi diet tinggi lemak dan *streptozotocin*?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui ada tidaknya hubungan durasi menderita diabetes melitus tipe 2 dengan memori spasial menggunakan uji *morris water maze* pada tikus remaja yang diinduksi diet tinggi lemak dan *streptozotocin*.

1.4 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Duration and Severity of Diabetes Are Associated with Mild Cognitive Impairment(Rosebud <i>et al</i> , 2008)	variabel bebas mengenai durasi pada diabetes	Penelitian sebelumnya mengaitkan variabel bebas dengan fungsi kognitif
Association of duration of type 2 diabetes with short term and working memory(Bedi & Dang, 2017)	variabel bebas durasi pada diabetes melitus tipe 2	Variabel terikat memori jangka pendek dan memori kerja pada usia 40 - 60 tahun
Spatial working memory impairment in primary onset middle-age type 2 diabetes melitus: An ethology and BOLD-fMRI study(Huang <i>et al</i> , 2016)	variabel terikat memori spasial pada diabetes melitus tipe 2	Subjek manusia, dengan metode <i>monteral cognitive assessment scale test, the Wechsler Memory Scale Chinese-revised test</i> dan BOLD fMRI

1.5 Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi dampak diabetes melitus tipe 2 terhadap memori pada remaja dan juga dapat di jadikan referensi untuk mendukung pencegahan terjadinya diabetes melitus tipe 2 di usia muda.

1.6 Hipotesis

H0: Terdapat hubungan antara durasi diabetes mellitus tipe 2 dengan memori spatial menggunakan uji *morris water maze* pada tikus remaja yang diinduksi diet tinggi lemak dan *streptozotocin*

H1: Tidak terdapat hubungan antara durasi diabetes mellitus tipe 2 dengan memori spatial menggunakan uji *morris water maze* pada tikus remaja yang diinduksi diet tinggi lemak dan *streptozotocin*



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus Tipe 2

a. Definisi Diabetes Mellitus tipe 2

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit akibat kekurangan atau tidak adanya insulin yang dihasilkan oleh sel beta pankreas dan juga bisa diakibatkan karena tidak efektifnya kerja insulin atau diakibatkan karena adanya penurunan sensitivitas reseptor insulin. Keadaan seperti ini menghasilkan peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah, yang dapat merusak banyak sistem tubuh, khususnya pembuluh darah dan saraf hingga akhirnya dapat memicu komplikasi bila tidak ditangani dengan baik (Riddle *et al.*, 2018). Terdapat dua tipe utama diabetes melitus yaitu diabetes yang ditandai dengan kurangnya produksi insulin (tipe 1) dan diabetes yang ditandai dengan kerja insulin yang kurang efektif oleh tubuh (tipe 2) (Kemenkes RI, 2014).

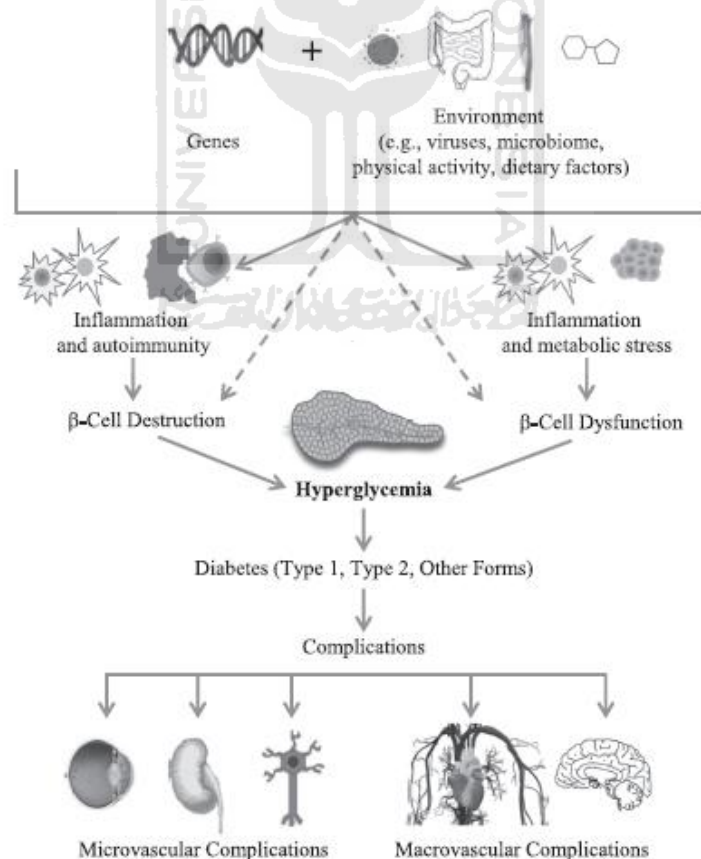
b. Faktor Resiko Diabetes Melitus tipe 2

Faktor resiko diabetes melitus tipe 2 paling banyak disebabkan karena gaya hidup yang tidak sehat dikaitkan dengan konsumsi daging dan makanan atau minuman manis yang berlebihan serta pola makan yang tidak sehat (Bellou *et al.*, 2018). Aktifitas fisik yang rendah atau gaya hidup sedenter berhubungan dengan peningkatan *Body Mass Index* (BMI) kearah obesitas yang juga menjadi faktor resiko terjadinya diabetes melitus tipe 2 (Imamura *et al.*, 2015). Kemudian tingkat pendidikan yang rendah secara tidak langsung berkaitan dengan resiko tinggi terjadinya diabetes melitus tipe 2. Tingkat pendidikan merupakan komponen status ekonomi dan sosial. Status sosial ekonomi yang lebih rendah dikaitkan dengan tingkat stres yang lebih tinggi sehingga menyebabkan gangguan fungsi endokrin melalui gangguan pada sistem neuroendokrinnya. Orang dengan status sosial ekonomi yang rendah lebih rentan terhadap pola hidup yang tidak sehat dan keterbatasan dalam mengakses fasilitas kesehatan (Agardh *et al.*, 2011).

c. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes Melitus tipe 2 terjadi ketika sel beta pankreas gagal mengeluarkan cukup insulin untuk memenuhi permintaan, biasanya dikaitkan dengan peningkatan resistensi insulin. Resistensi insulin berkembang karena cadangan lemak ektopik di hati dan otot. Lemak mungkin juga terkumpul di pankreas dan berkontribusi pada penurunan fungsi sel beta pankreas, inflamasi sel islet, dan akhirnya menyebabkan kematian sel beta. Untuk orang yang rentan, mungkin terdapat ambang batas lemak pribadi dimana terjadi akumulasi lemak ektopik yang akan memperburuk resistensi insulin dan menyebabkan sel beta gagal mengkompensasi. Penurunan berat badan memperbaiki sensitivitas insulin di hati dan otot rangka kemudian akan menurunkan akumulasi lemak pankreas (Skyler *et al.*, 2017).

Komplikasi Diabetes Melitus Tipe 2



Gambar 1. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2 (Skyler, 2017)

Kadar gula darah yang tidak terkontrol akan menimbulkan komplikasi. Manifestasi komplikasi kronik dari diabetes melitus dapat terjadi pada tingkat mikrovaskular dan makrovaskular (Papatheodorou *et al.*, 2016). Paparan kronis hiperglikemia mempengaruhi mikrovaskular yang akhirnya mengarah pada nefropati diabetik, retinopati diabetik, neuropati diabetik, disfungsi seksual yang berasal dari disfungsi endotels (Faselis *et al.*, 2019). Komplikasi mikrovaskular otak mungkin menjadi patogenesis penurunan memori (Bedi & Dang, 2017). Resistensi insulin menyebabkan komplikasi makrovaskular, kondisi tersebut menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS), senyawa proinflamasi dan menurunkan aktivitas nitrit oksida (NO) sehingga terjadi peningkatan agregasi platelet dan peningkatan trombosis serta disfungsi endotel yang akan menyebabkan penyakit kardiovaskular dan stroke (Huang *et al.*, 2017).

2.2 Durasi Diabetes Melitus Tipe 2

Roberts *et al.* (2017) melaporkan adanya hubungan lamanya durasi dan tingkat keparahan diabetes melitus terhadap gangguan kognitif ringan. Dalam penelitiannya yang melibatkan 4398 individu diabetes melitus yang memenuhi syarat dengan usia 70-89 tahun menunjukkan 20.1% mengalami gangguan kognitif ringan dan 17.7% tidak mengalami gangguan kognitif dengan onset diabetes melitus kurang dari 65 tahun dan lamanya durasi diabetes melitus \geq 10 tahun. Fungsi kognitif penting untuk mendukung produktivitas seseorang.

Bedi dan Dang (2017), juga melaporkan penelitiannya pada 100 subjek diabetes melitus tipe 2 dengan usia 40-60 tahun dan hasilnya terdapat hubungan negatif diabetes melitus dengan penurunan memori jangka pendek dan memori kerja. Penelitian ini menunjukkan memori memburuk dengan adanya peningkatan durasi diabetes melitus. Sejalan dengan temuan di mana lamanya durasi diabetes melitus dapat dikaitkan dengan penyakit mikrovaskular otak yang lebih besar. Komplikasi mikrovaskular otak ini mungkin menjadi patogenesis penurunan memori dan alternatif patogenesis penurunan kognitif adalah adanya agregasi beta amiloid, peningkatan level sitokin proinflamasi. Penelitian pada model tikus yang diinduksi streptozotisin dosis tunggal sebanyak 25 mg/kgbb diikuti dengan diet tinggi lemak

menunjukkan penurunan kognitif pada 4 minggu setelah di induksi diabetes melitus tipe 2 (Banerjee, 2018).

2.3 Memori Spasial Menggunakan *Morris Water Maze*

Memori adalah kemampuan otak sebagai tempat penyimpanan data atau informasi yang berasal dari proses belajar dan latihan berulang (Dorland, 2010). Proses pembelajaran tersebut akan di ubah menjadi suatu kode (*coding*), disimpan (*storage*) dan kemudian dipanggil kembali ketika dibutuhkan (*retrieve* atau *recall*) dalam bentuk ingatan (Kandel *et al*, 2000). Secara umum, yang disimpan adalah konsep bukan dalam bentuk kata-kata (Sherwood, 2014). Penyimpanan data yang diperoleh diproses paling tidak dengan dua cara, yaitu: ingatan jangka-pendek (*short term memory*) dan ingatan jangka-panjang (*long term memory*) (Guyton & Hall, 2007). Kapasitas penyimpanan ingatan jangka-pendek terbatas hanya berlangsung detik hingga jam, sedangkan kapasitas yang sangat besar dan dipertahankan hingga hitungan bertahun-tahun akan disimpan pada ingatan jangka-panjang (Sherwood, 2014).

Berdasarkan jenis informasi yang disimpan di bagi menjadi dua, yaitu: memori deklaratif (eksplisit) dan memori non-deklaratif (implisit). Proses mengingat terhadap individu, suatu tempat, benda dan kejadian spesifik secara sadar disimpan dalam memori deklaratif (Sherwood, 2014). Proses mengingat dalam bawah sadar misalnya melakukan kebiasaan, melaksanakan prosedur atau tugas seperti keterampilan motorik disimpan dalam memori non-deklaratif (Mann & Klemm, 2011).

Memori spasial termasuk dalam memori deklaratif atau eksplisit (Cassenti & Carlson, 2008). Parahippocampus merupakan struktur bagian dalam otak yang penting dalam memori spasial, misalnya mengingat arah dan posisi mengetahui ruang bidang, bentuk, jarak, luas, merubah, merotasi, melipat dan membalik gambaran visual yang ada dalam pikiran (Shrager *et al.*, 2007). Tanpa adanya memori spasial maka individu akan mengalami kesulitan dalam memahami posisi diri, melihat bentuk dan ruang bidang, tidak dapat mengingat arah atau letak suatu benda, serta tidak dapat memperkirakan jarak suatu tempat (Mastrangelo *et al.*, 2008). Stimulus berupa visual seperti bentuk, gambar-gambar yang menjelaskan kejadian

terkini akan disimpan ke hippocampus kemudian dihubungkan dengan stimulus kejadian di masa lampau (Japardi, 2002).

Gangguan memori spasial sangat berhubungan dengan penuaan (Sharma, 2010). Selain itu cedera otak dapat menyebabkan penurunan memori. Cedera pada otak meliputi sumbatan pada pembuluh darah, atrofi, trauma dan penyakit yang dapat menginisiasi terjadinya kerusakan jaringan otak seperti diabetes melitus dapat menyebabkan gangguan memori (Hamed *et al.*, 2012).

Memori spasial dalam penelitian menggunakan model tikus dapat dipelajari menggunakan uji *morris water maze*. *Morris water maze* telah terbukti sangat sensitif dalam penilaian kerusakan hippocampus (Sharma dan Brown, 2010). Uji *morris water* merupakan *gold standard* untuk mempelajari perilaku terkait memori. Hewan coba diletakkan di genangan air opak atau buram yang telah dicampur bubuk tanpa lemak atau cat tidak beracun, dimana hewan coba harus berenang ke landasan pelarian tersembunyi untuk menyelamatkan dirinya dari genangan air. Hewan coba tidak dapat melihat landasan karena berada pada genangan air yang buram dan tidak dapat mengandalkan aroma untuk menemukan rute pelarian. Sebaliknya, mereka harus bergantung dengan isyarat eksternal yaitu hewan yang terbiasa dengan uji ini akan menemukan landasan pelarian lebih cepat (Nunez, 2008).

Dalam *maze* ini, tikus dapat menggunakan 3 strategi yang berbeda untuk mencapai landasan yang tersembunyi yaitu menggunakan strategi praksis, ketika hewan mempelajari urutan gerakan yang diperlukan untuk mencapai landasan. Strategi pajak, ketika hewan menggunakan isyarat atau panduan proksimal visual untuk mencapai landasan, atau strategi spasial, ketika hewan mencapai target menggunakan informasi tentang lokasi spasial landasan sesuai dengan konfigurasi spasial isyarat distal. Ukuran kolam untuk tikus bisa mencapai 75-150 cm (tikus 150-180 cm). Diameter dapat mempengaruhi atau tidak mempengaruhi kinerja tergantung pada jenis hewan yang digunakan. Beberapa parameter dapat diperoleh dengan *maze* ini, misalnya interval waktu mencapai landasan, panjang jalur berenang, kecepatan berenang, waktu yang dihabiskan disetiap kuadran, persen percobaan dengan kegagalan (2 menit tidak menemukan landasan) (Sharma, 2010).

2.4 Hubungan Diabetes Melitus dengan Memori Spasial

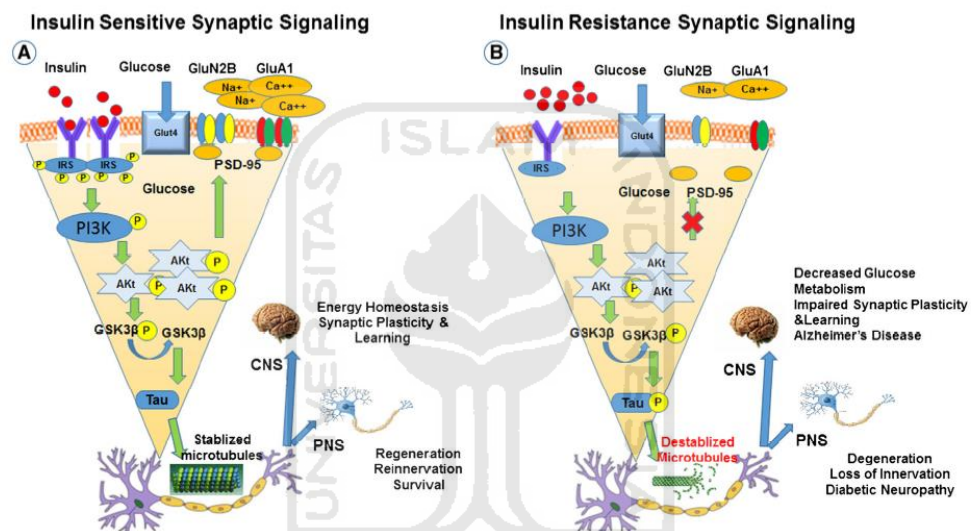
Mekanisme diabetes melitus tipe 2 di hubungkan dengan pelemahan kognisi diklasifikasikan menjadi cerebrovaskular dan non-serebrovaskular. Ketidaknormalan serebrovaskular seperti infark pada otak dan hipersensitivitas pada *white matter* yang dihubungkan dengan amiloid serebral agiopati. Amiloid beta dapat mengurangi efek insulin pada terminal sinaptik mitokondria dan menghabiskan cadangan energi yang dibutuhkan untuk plastisitas sinaptik, proses belajar dan memori (Heras *et al.*, 2012).

Hiperglikemia kronis memicu terbentuknya *advanced glycation end products* (AGEs). Peningkatan AGE memicu stres oksidatif dan respon neuroinflamasi. Selama terjadi cedera otak, sel mikroglial menyekresi neurotoksik sitokin proinflamasi. Sementara astrosit yang teraktivasi akan sangat mengekspresikan *glial fibrillary acidic protein* (GFAP) yang dapat mencegah regenerasi akson dan melepas kemokin seperti *monocyte chemoattractant protein* (MCP)-1 dengan demikian merekrut lebih banyak mikroglial ke lokasi cedera. Keadaan ini akan menciptakan lingkungan inflamasi yang merugikan pada neuron di hipokampus (Banerjee, 2018).

Beberapa studi menemukan kelainan struktur subkortikal pada pasien dengan diabetes melitus yang berhubungan dengan penurunan kognitif dikaitkan dengan kecepatan proses mental dan memori. Hipokampus merupakan bagian otak yang paling terkena dampak utama diantara struktur *gray matter* subkortikal lainnya pada diabetes melitus tipe 2 ini. Perubahan struktural di C1 hipokampus dan daerah subikulum mungkin merupakan inti dari mekanisme neurobiologi yang mendasari disfungsi hipokampus. Hal ini menunjukkan bahwa degenerasi di daerah ini dapat menjelaskan atas gangguan memori yang terjadi pada pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 (Zhang *et al.*, 2015).

Hiperglikemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) atau terganggunya pertahanan antioksidan yang memicu apoptosis. Mitokondria telah terbukti berperan penting dalam kematian sel neuron dalam hipokampus oleh aktivasi BAX dan pelepasan sitokrom-C yang diaktifkan oleh caspase-3 pada diabetes melitus tipe 2. Studi sebelumnya telah menunjukkan hiperglikemia itu dapat

meningkatkan 6.9 kali lipat hipokampus caspase-3 yang merupakan ciri khas kematian sel apoptosis (Hussain, Jain & Samaiya, 2018). Insulin resisten sistemik menyebabkan gangguan pensinyalan insulin di hipokampus. Sensitivitas insulin reseptor diekspresikan dalam soma neuronal dan terutama pada terminal sinaptik yang memiliki peran penting dalam menjaga memori di hipokampus. Dalam kondisi fisiologis, ikatan insulin dengan reseptornya di sinaps memicu fosforilasi substrat reseptor insulin-1 (IRS-1). Hal ini menghasilkan aktivasi phosphoinositide 3-kinase (PI3K), fosforilasi Akt, fosforilasi GluA1, dan peningkatan kehadiran GluN2B di sinapsis. Peristiwa ini



Gambar 2. Proses Sinyal Insulin Neuronal (Zilliox et al., 2017)

mendukung pembentukan sinapsis dan fungsi memori. Di otak diabetes, resistensi insulin menurunkan kadar reseptor insulin dan mengurangi pensinyalan insulin. Hal ini menyebabkan penurunan kadar fosforilasi GluN2B dan GluA1 di sinapsis, yang pada akhirnya menyebabkan plastisitas dan memori sinaptik yang terganggu. Pengurangan pensinyalan insulin otak meningkatkan aktivitas GSK-3b yang meningkatkan fosforilasi protein tau menjadi abnormal (Zilliox *et al.*, 2017).

2.5 Model Tikus Diabetes melitus tipe 2 Remaja

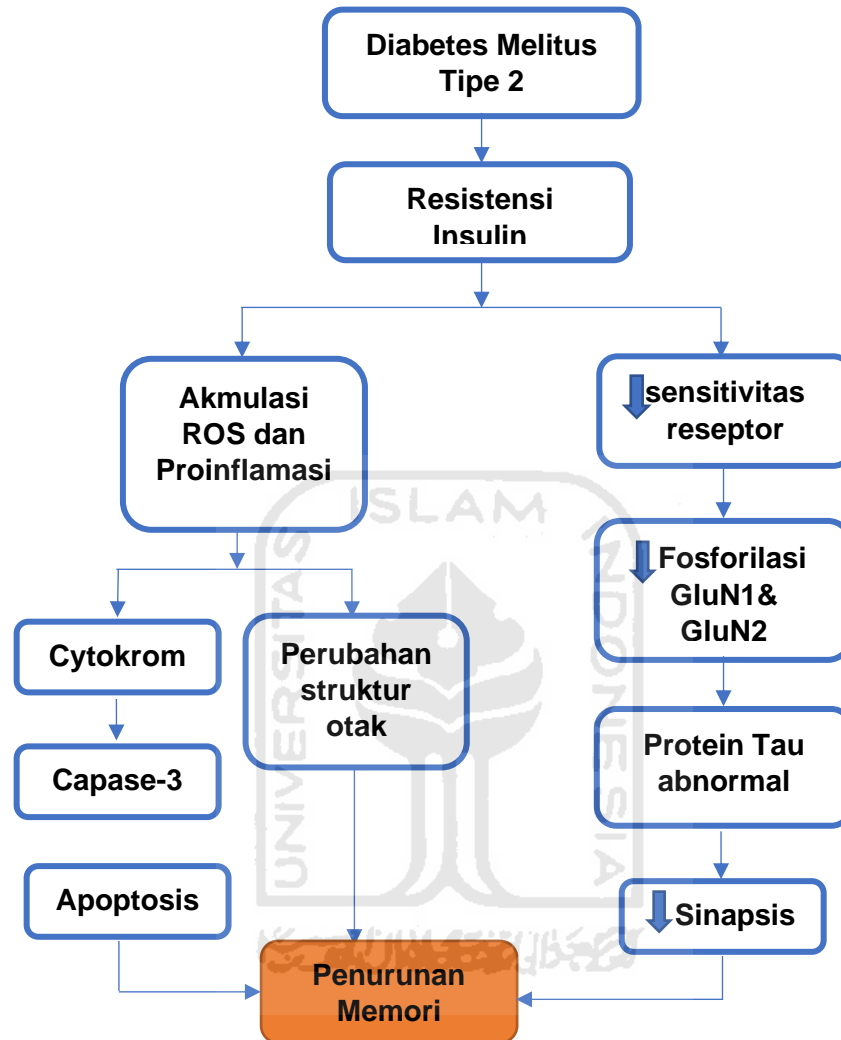
Kategori usia remaja yaitu antara usia 10 tahun sampai 19 tahun (WHO, 2019). Model tikus yang berhubungan dengan usia remaja pada manusia berumur 5 minggu-10 minggu. Pada hewan model remaja berat tikus 115-300 gram (Sengupta, 2013). Model hewan diabetes melitus tipe 2 dapat di induksi dengan dan streptozotocin (STZ) dan diet tinggi lemak (Banerjee, 2018).

Streptozotocin adalah senyawa diabetogenik permanen yang diproduksi oleh bakteri *streptomyces achromogenestest* gram positif. Streptozotocin menginduksi diabetes melitus pada hewan model dengan merusak sel beta pankreas yang memproduksi insulin (Jayasimha *et al*, 2015).

Induksi (STZ) dosis rendah bertanggung jawab atas kerusakan sedang pada sel beta pankreas. Kerusakan parsial ini menyebabkan sel-sel beta mengeluarkan lebih sedikit insulin yang mengakibatkan toleransi glukosa menyerupai diabetes melitus tipe 2 pada manusia. Dosis STZ penting untuk pengembangan diabetes tipe 1 dan tipe 2 pada tikus (Banerjee, 2018). Studi melaporkan dosis dan jumlah injeksi STZ yang berbeda-beda untuk pengembangan model tikus diabetes melitus tipe 2. Pramaningtyas *et al* (2016) menggunakan 35 mg/kg STZ untuk menginduksi diabetes melitus. Pada penelitian yang dilakukan oleh Guo *et al* (2012), induksi diabetes melitus tipe 2 menggunakan 30 mg/kg STZ ditambah diet tinggi lemak dan pada penelitian lain induksi diabetes melitus tipe 2 menggunakan 40mg/kg STZ ditambah diet tinggi lemak (Sahrma *et al.*, 2011).

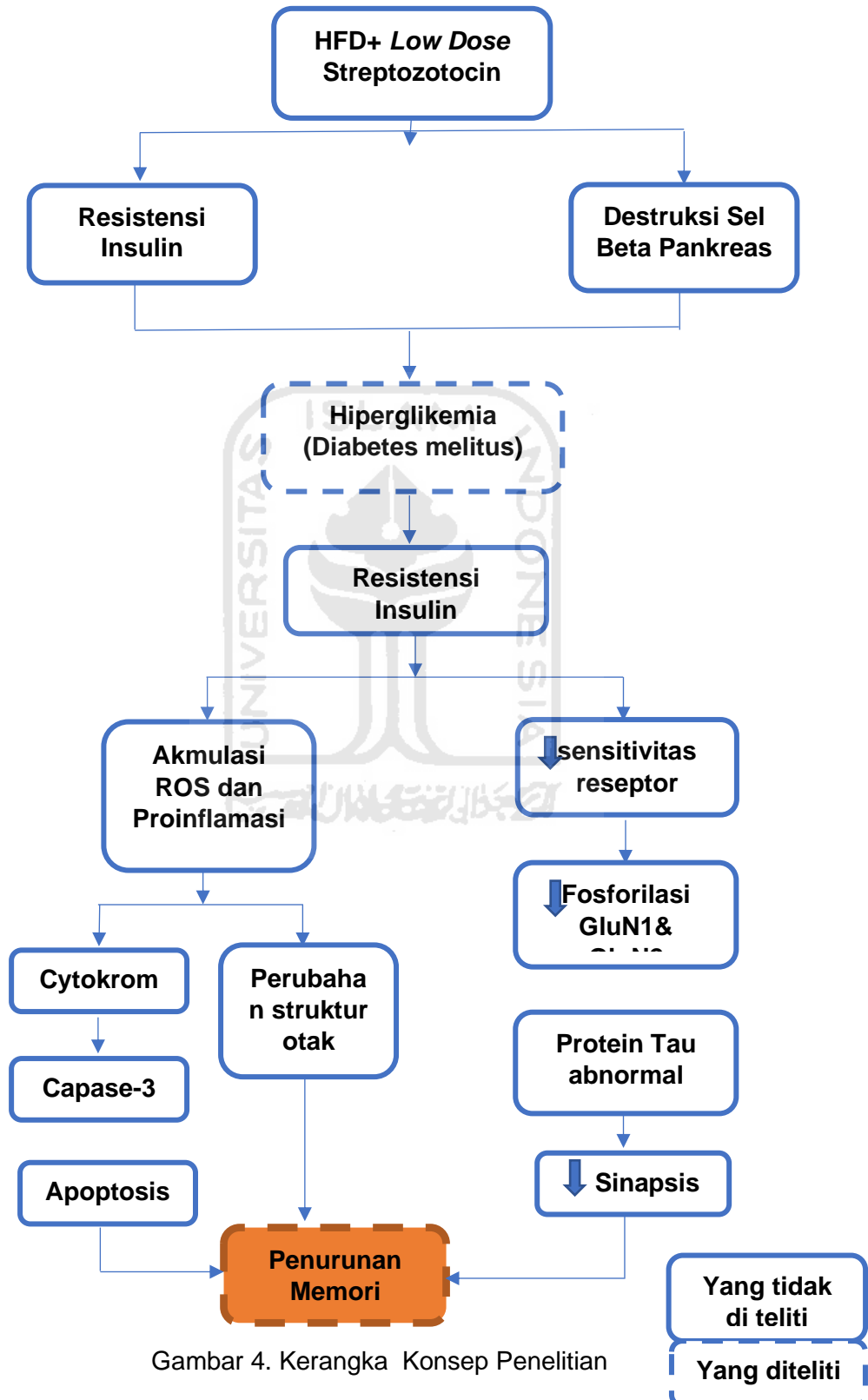
Diet tinggi lemak dapat memicu obesitas, hiperinsulinemia, dan mempengaruhi homeostatik glukosa yang menyebabkan kegagalan kompensasi oleh sel beta pankreas. Obesitas lebih disebabkan oleh manipulasi lingkungan daripada gen, diperkirakan memodelkan situasi diabetes melitus tipe 2 pada manusia lebih akurat daripada model genetik dari obesitas untuk meginduksi diabetes. Beberapa studi melaporkan bahwa diet tinggi lemak selama 2-7 minggu menginduksi resistensi insulin yang stabil (Vatandoust, 2018).

2.6 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori Penelitian

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep Penelitian

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan desain penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true eksperimental* dengan menilai hubungan durasi menderita diabetes melitus tipe 2 dengan memori spasial pada tikus remaja yang diinduksi streptozotocin. Penelitian ini menggunakan desain *pre post-test only control group*.

3.2 Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia selama 2 bulan.

3.3 Populasi dan Subyek penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian adalah tikus *Sprague-Dawley* (SD) jantan usia 3 minggu dengan berat 35-80 gram yang ada di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

3.3.2 Subyek Penelitian

Sampel diambil dari populasi dengan *simple random sampling* di bagi menjadi 4 kelompok, yaitu:

Kelompok kontrol negatif: Diet normal

Kelompok kontrol positif: STZ 35 mg/kgbb

Kelompok perlakuan I : Diet tinggi lemak (2 minggu) + STZ 35 mg/kgbb (1 minggu)

Kelompok perlakuan II: Diet tinggi lemak (2 minggu) + STZ 35 mg/kgbb (3 minggu)

Kriteria inklusi :

1. Tikus *Sprague-Dawley* (SD) jantan usia 3 minggu berat 35-80 gram
2. Tikus tidak cacat dan sehat, tikus yang sehat mempunyai bulu bersih, tidak basah, bergerak normal
3. Kadar gula darah puasa pada kelompok positif dan kelompok perlakuan ≥ 126 mg/dL

Kriteria eksklusi :

1. Tikus mati atau sakit selama penelitian
2. Kadar gula darah puasa pada kelompok positif dan kelompok perlakuan ≤ 126 mg/dL

3.3.3 Besar Sampel

Besar sampel minimal dihitung dengan menggunakan rumus *Frederer*:

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

Dimana :

p = jumlah kelompok hewan percobaan

t = jumlah kelompok

n = besar sampel tiap kelompok

n = ?

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(4-1) (n - 1) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$n \geq 5,6 \text{ dibulatkan menjadi } 6$$

Berdasarkan perhitungan besar sampel. Jumlah subyek penelitian yang digunakan adalah 6 ekor tikus pada setiap kelompok. Pada penelitian ini di bagi menjadi empat kelompok sehingga subjek yang kami gunakan dalam penelitian terdapat 30 ekor tikus dengan rincian 24 ekor tikus kelompok kontrol serta perlakuan dan 6 ekor tikus cadangan .

3.4. Identifikasi Variabel

Variabel Bebas: Durasi menderita diabetes melitus tipe 2

Variabel Terikat : Memori Spasial

3.5. Definisi Operasional

3.5.1 Diabetes melitus tipe 2: keadaan gula darah puasa ≥ 126 mg/dL (Konsue A.,Picheansoonthon C.,Talubmook C, 2018)

3.5.2 Durasi mengalami diabetes melitus tipe 2: waktu sejak pertama kali gula darah diinterpretasikan sebagai diabetes melitus tipe 2 sampai pengambilan data.

3.5.3 Memori spasial tikus: kemampuan daya ingat dalam mengenali navigasi, arah serta ruagan. Memori spasial pada tikus dalam penelitian ini diukur menggunakan *morris water maze* (Gambar 3). Terdapat 3 *morris water maze* pada penelitian ini, yaitu: *acquisition test*, *probe test* dan uji sensori motorik. Pada setiap uji dihitung waktu atau *escape latency* (detik) dan panjang lintasan atau *path length* (meter) tikus saat diletakan pertama kali ke dalam *morris water maze* sampai mencapai landasan atau berada dikuadran target tempat landasan sebelumnya diletakkan.

- 3.5.4 *Morris Water Maze* adalah labirin berisi air opaq untuk uji kemampuan kognitif dan memori spasial pada hewan coba yang menggambarkan fungsi otak. Proses analisa meliputi perhitungan rerata panjang lintasan dan waktu mencapai landasan pada setiap kelompok uji yang kemudian dilakukan perbandingan antar kelompok uji.
- 3.5.5 Streptozotocin: Senyawa untuk menginduksi diabetes melitus dengan dosis 35mg/dL intraperitoneal.
- 3.5.6 Diet Tinggi Lemak : makanan untuk menginduksi diabetes melitus tipe 2 dengan meningkatkan berat badan dan distribusi lemak pada hewan model selama 2 minggu.

Tabel 2. Komposisi Diet Tinggi Lemak (Hussain, Jain & Samaiya, 2018)

Komposisi Diet Tinggi Lemak	Gram /100 gram
Pakan Pelet	12 %
Lemak Sapi	58 %
Telur Puyuh	10%
Fruktosa Tinggi (Sirup Jagung)	20 %

3.6. Instrumen Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian:

- a. *Morris Water Maze*
- b. Kandang untuk pengelompokan tikus
- c. Handscone
- d. Masker
- e. Alat *Rapid Test* Accu Check

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. *Streptozotocin*
- b. Dekstrosa 5%
- c. Accu Check Strip
- d. Diet tinggi lemak
- e. Pakan tikus AD 2 merk Comfied
- f. Sekam
- g. Alkohol 70%
- h. Santan

3.7. Alur Penelitian

3.7.1 Persiapan Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba dalam kandang berukuran (40x20x20) cm³. Setiap kandang diisi 1 tikus. Suhu dalam kandang diatur pada suhu kamar. Pencahayaan dalam kandang diatur 12 jam:12 jam siklus terang gelap. Waktu terang dimulai pukul 07.00 WIB dan waktu gelap dimulai pukul 19.00 WIB dengan suhu 20 -24°C dan kelembapan 60%.

3.7.2 Protokol Induksi Diabetes Melitus

1. Aklimatisasi selama 9 hari
2. Pada hari ke-10, dirandomisasi dan tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu, kelompok kontrol negatif, kelompok positif, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2.
3. Kemudian kelompok kontrol negatif diberi diet normal yaitu pelet dan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diberi makan diet tinggi lemak. Berat badan, masukan cairan dan makanan dicatat setiap hari.
4. Hari ke-27 tikus semua kelompok dipuasakan selama 12 jam kemudian cek gula darah puasa dan profil lipid menggunakan Accu Check. Hewan coba menerima makanan masing-masing selama 14 hari sampai hari ke-26.
5. Hari ke-28, kelompok positif dan kelompok perlakuan diinduksi STZ 35mg/kgBB intraperitoneal (Prமானingtyas *et al.*, 2016).
6. Setelah 3 hari dari induksi STZ yaitu pada hari ke-31, gula darah puasa (tikus sebelumnya dipuasakan 12 jam) dihitung untuk mengkonfirmasi perkembangan model diabetes melitus tipe 2 ini. Hewan coba diputuskan mengalami diabetes melitus tipe 2 jika gula darah puasa \geq 126 mg/dL.
7. Jika gula darah puasa hewan coba \geq 126 mg/dL masuk dalam subjek penelitian. Ditunggu dalam waktu 1 minggu untuk durasi diabetes melitus tipe 2 pada kelompok P1. Sedangkan ditunggu 3 minggu untuk durasi diabetes melitus tipe 2 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok P2. dan dilakukan uji *morris water maze* sesuai durasi diabetes melitus tipe 2 pada tiap kelompok.

8. Hari ke-39, kelompok P1 dengan durasi diabetes melitus tipe 2 selama 1 minggu diukur gula darah puasa. Setelah itu dilakukan uji *morris water maze*. Hal ini dilakukan juga pada kelompok negatif, kelompok positif dan kelompok P2 pada hari ke-51.

3.7.2 Protokol Uji *Morris Water Maze* (Yuliani and Partadiredja, 2018)

a. Pengaturan *Water Maze*

1. Komponen utama dari *water maze* yang diatur adalah kolam bundar, berdiameter sekitar 150 cm dan dengan tinggi sekitar 40 cm. Ketika merekam uji *morris water* dengan kamera video, semua sisi kolam harus berada dalam bidang pandang kamera.
2. *Morris water maze* diisi dengan air ledeng, yang mendekati 26 °C.
3. Suhu air diukur secara berkala sehingga berada dalam satu derajat 25 ± 2 °C.
4. Air ledeng ditambahkan dengan santan sebanyak 2 L agar kondisi air dalam kolam menjadi opak
5. Tempatkan landasan pelarian di tengah kuadran yang dipilih secara acak untuk setiap tikus. Kolam di bagi empat kuadran yang sama besar. Pada keliling dinding kolam ditandai dengan delapan titik awal yang berjarak sama.

b. Uji *Morris Water Maze*

Pada penelitian ini pengukuran memori spasial dengan uji *morris water maze* menggunakan dua parameter, yaitu *escape latency* (waktu yang dibutuhkan tikus untuk mencapai landasan atau berada dikuadran target) dan *path length* (panjang lintasan yang dibutuhkan tikus untuk mencapai landasan atau berada dikuadran target yang di ukur menggunakan *curvimeter*). Setiap parameter memiliki 3 fase uji, yaitu: *acquisition test*, *probe test* dan uji sensori motorik.

Acquisition Test

1. Setiap tikus diberikan 4 kali uji dengan titik mulai yang berbeda-beda dengan interval percobaan 60 detik.
2. Tikus hanya diberikan waktu maksimal 60 detik untuk menemukan landasan yang tersembunyi pada setiap percobaan
3. *Morris Water maze* memiliki 4 posisi awal: utara, selatan, timur, atau barat. Bawa hewan ke salah satu posisi. Turunkan hewan ke dalam

air dengan menyangga dengan tangan dan membawanya ke ujung air dengan lembut terlebih dahulu. Jangan membuat hewan menjadi stres dengan memasukkan kepalanya dulu ke dalam air.

4. Biarkan hewan berenang/mencari landasan selama maksimal 60 detik. Pada awalnya, hewan itu bisa berenang di sekitar tepi kolam mencari jalan keluar. Akhirnya, hewan itu akan belajar mencari landasan dan memanjat.
5. Setelah hewan pengerat mencapai landasan, hentikan *timer*, dan catat waktu. Jika tidak menemukan landasan dalam 60 detik, maka catat waktunya untuk uji coba ini sebagai satu menit. Jangan mengambil hewan itu jika gagal mencapai landasan. Ajari hewan itu bahwa ia harus berenang ke landasan. Karena itu, arahkan hewan dengan lembut ke landasan. Biarkan hewan duduk di landasan selama 20 detik. Jika jatuh atau melompat, dengan lembut membimbingnya kembali ke landasan. Ini akan melatih hewan itu bahwa ia harus tetap di landasan untuk diselamatkan dari kolam air.
6. Ulangi prosedur yang sama untuk percobaan berikutnya, mulai dari arah yang berbeda untuk setiap percobaan.
7. Setelah hewan menyelesaikan keempat percobaan, keringkan dengan handuk. Ulangi proses empat kali pelatihan uji coba untuk semua hewan secara berurutan.
8. Waktu (*escape latency*) untuk menemukan landasan dicatat
9. Panjang lintasan (*Path Length*) dihitung menggunakan *curvimeter* dimulai saat tikus dilepaskan sampai menemukan landasan

Probe Test (Memory Persistence Test)

Uji ini untuk menentukan kemampuan tikus dalam mempertahankan memori tata ruang tentang lokasi landasan.

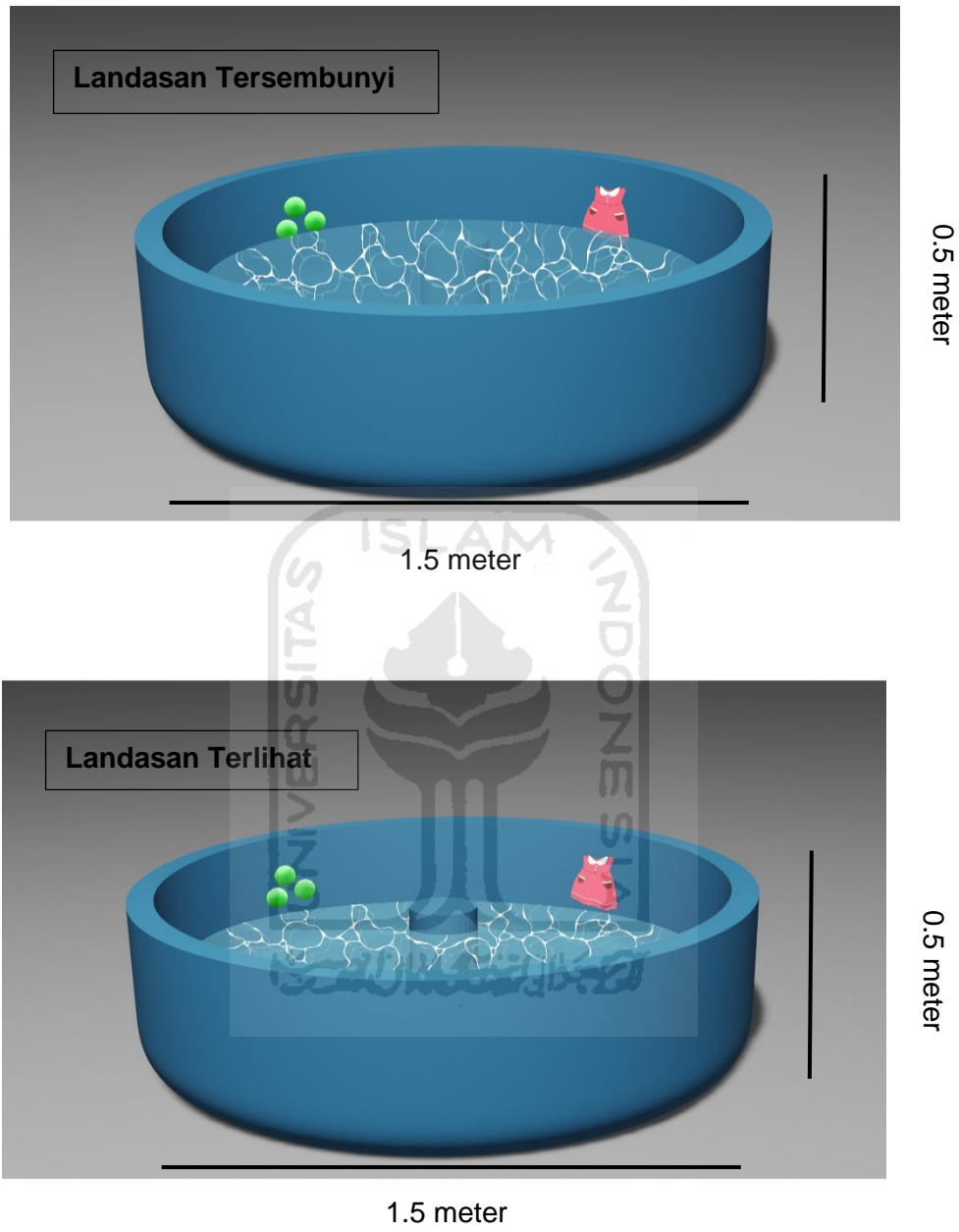
1. Tikus menjalani uji ini 24 jam setelah melakukan *Acquisition Test*
2. Setiap tikus berenang dikolam tanpa landasan selama 60 detik
3. Waktu yang dihabiskan pada kuadran tempat landasan ketika *Acquisition Test* diletakkan sebelumnya dicatat
4. Waktu yang dihabiskan di kuadran target (tempat landasan sebelumnya diletakkan) selama 60 detik, dicatat dan disajikan dalam persen

5. Panjang lintasan pada *probe test* dihitung dengan *curvimeter* selama tikus berada di kuadran target dan hitung panjang lintasan tikus selama 60 detik berada di dalam *morris water mazedan* disajikan dalam persen

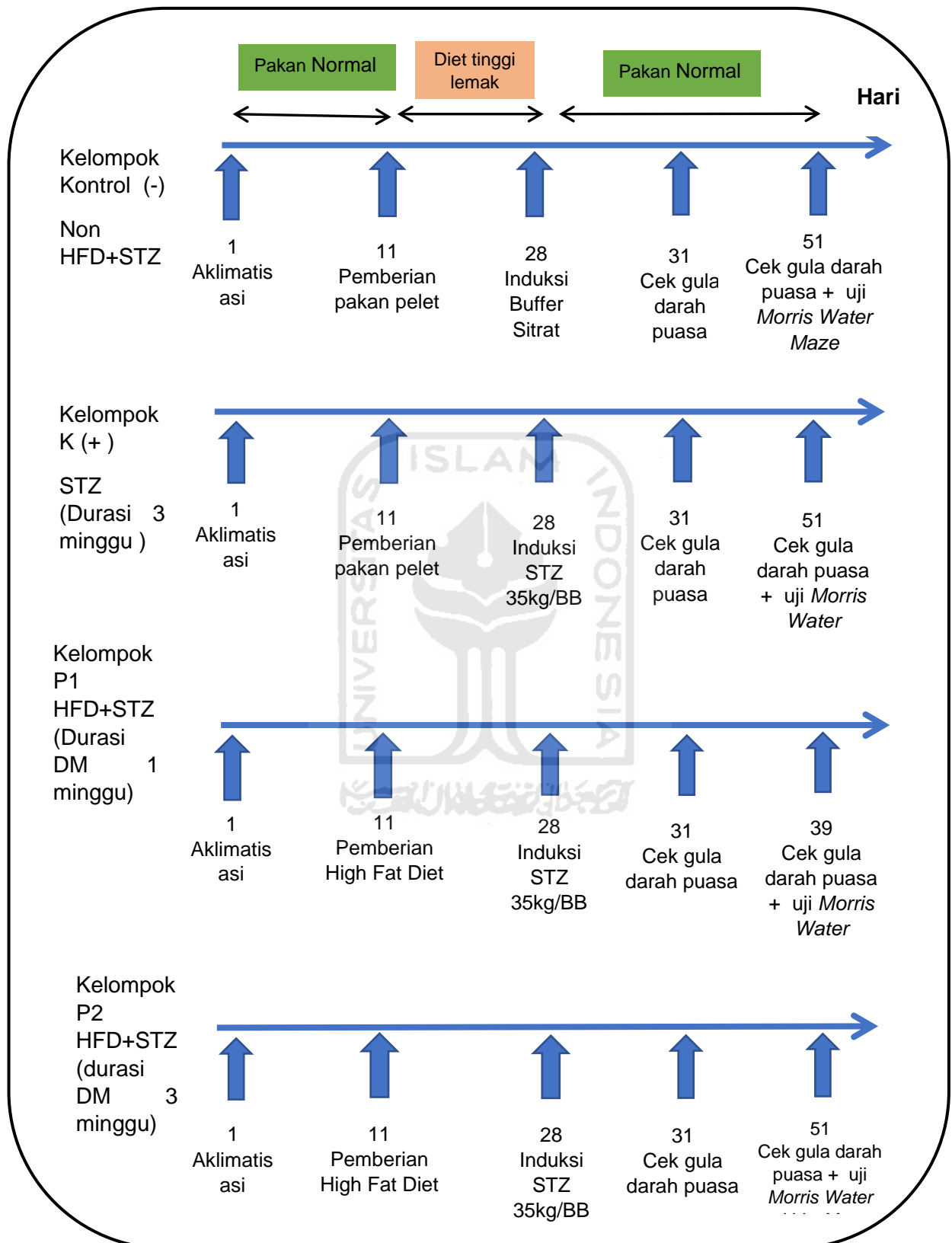
Uji Sensori Motorik

Uji sensori motorik digunakan untuk memeriksa fungsi sensorik dan motorik tikus. Platform terlihat 2cm diatas permukaan air.

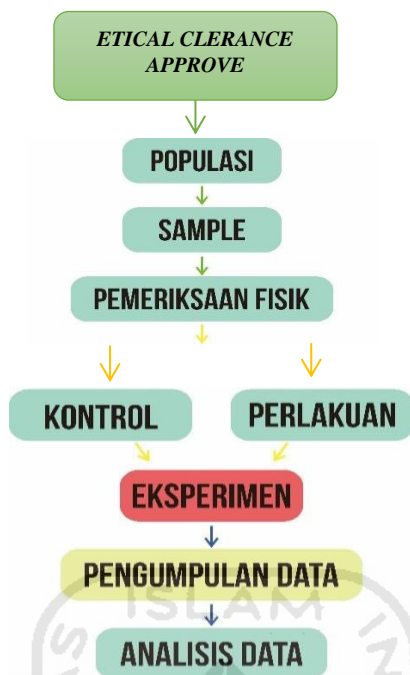
1. Untuk uji sensori motorik, landasan harus terlihat 3 cm di atas permukaan, sehingga hewan itu tahu ada landasan di sana. Hal ini untuk menentukan fungsi sensori dan motorik. Air harus berada dalam satu derajat 25 ± 2 °C.
2. Setiap tikus akan menjalani empat percobaan berturut-turut.
3. *Morris Water maze* memiliki 4 posisi awal: utara, selatan, timur, atau barat. Bawa hewan ke salah satu posisi. Turunkan hewan ke dalam air dengan menyangga dengan tangan dan membawanya ke ujung air dengan lembut terlebih dahulu. Jangan membuat hewan menjadi stres dengan memasukkan kepalanya dulu ke dalam air.
4. Biarkan hewan berenang/mencari landasan selama maksimal 60 detik.
5. Waktu (*escape latency*) untuk menemukan landasan dicatat
6. Ketika tikus mencapai landasan, biarkan selama 20 detik
7. Jika tikus gagal menemukan landasan selama 60 detik, berikan skor latensi 60 detik dan letakkan tikus di atas landasan selama 20 detik
8. Ulangi prosedur yang sama untuk percobaan berikutnya, mulai dari arah yang berbeda untuk setiap percobaan.
9. Setelah hewan menyelesaikan keempat percobaan, keringkan dengan handuk. Ulangi proses empat kali pelatihan uji coba untuk semua hewan secara berurutan. Pertahankan arah yang sama, catat waktu dan panjang lintasan tikus.
10. Panjang lintasan pada uji sensori motorik dihitung menggunakan *curvimeter* dimulai saat tikus dilepaskan sampai menemukan landasan



Gambar 5. Ilustrasi *Morris Water Maze*



Gambar 6. Skema Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

3.8. Metode dan Analisis Data

Data yang diperoleh merupakan data nominal ordinal yang akan dianalisis secara statistik menggunakan *Annova/ Kruskal Willis* dengan aplikasi statistik.

3.9. Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilaksanakan peneliti mengajukan surat keterangan persetujuan etik di Fakultas Kedokteran UGM. Setelah surat tersebut disetujui peneliti melakukan eksperimen terhadap subjek penelitian.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Maret 2020 sesuai dengan etik penelitian yang sudah lolos kaji etik dari *Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC)* Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada dengan nomor etik KE/FK/1486/EC/2019.

4.1.1 Deskripsi Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus putih Spargue Dawley jantan yang dikembangkan oleh Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Tikus berumur 3 minggu dengan berat badan 35-80 gram. Berdasarkan rumus besar sampel Federer dalam penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus yang terbagi dalam 4 kelompok. Namun mempertimbangkan kemungkinan tikus *drop out*, peneliti menambahkan 6 ekor tikus sebagai cadangan. Kelompok dalam penelitian ini terdiri dari kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+)(STZ 35mg/KgBB), Perlakuan 1 (P1) dan Perlakuan 2 (P2) yang diinduksi diet tinggi lemak selama 2 minggu dan STZ 35mg/KgBB. Kelompok P1 dan P2 dibedakan berdasarkan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2. Durasi diabetes melitus tipe 2 ditentukan setelah induksi diet tinggi lemak (HFD) selama 2 minggu. Kemudian diinduksi STZ, setelah 3 hari dari induksi STZ gula darah puasa dicek. Jika gula darah puasa saat dicek hingga 1 minggu kedepan lebih dari ≥ 126 mg/dL dimasukkan pada kelompok P1 dan 3 minggu untuk kelompok P2.

Pada tabel 3 terlihat bahwa berat badan setelah induksi signifikan berbeda antar kelompok ($p < 0,005$). Glukosa darah puasa setelah induksi STZ signifikan berbeda secara bermakna antar kelompok ($p < 0,005$).

Tabel 3. Karakteristik Subjek Setelah Induksi STZ dan Diet Tinggi Lemak

Karakteristik	Kelompok				P-value
	K- (n=6)	K+ (n=6)	P1 (n=6)	P2 (n=6)	
BB Setelah Induksi	208,16 $\pm 12,87$	190,83 $\pm 38,76$	132,16 $\pm 50,49$	171,66 $\pm 34,17$	0,012*
GDP Setelah Induksi STZ	96,00 $\pm 19,11$	194,8 \pm 114,0	294,1 $\pm 188,8$	150,6 $\pm 31,82$	0,002**

Data disajikan dalam bentuk *Mean \pm SD*. *Uji *One Way Anova* $p < 0,005$.

**Uji *Kruskal Wallis* $p < 0,005$

4.1.2 Hasil Pengukuran Induksi Diabetes Melitus Tipe 2

Di bawah ini ditampilkan data dalam rerata \pm SD pengukuran berat badan tikus sebelum dan setelah diberikan diet tinggi lemak menggunakan analisis statistik *paired T-test* pada pengukuran berat badan tikus. Dari hasil statistik terdapat perbedaan bermakna pada berat badan tikus sebelum dan sesudah diberikan diet tinggi lemak dengan *p-value* =0,000 (tabel 4). Hasil pengukuran berat badan tikus setelah diberikan diet tinggi lemak. Data berdistribusi normal, $p>0,05$ dan *Levene test* $p>0,05$ sehingga memenuhi syarat analisis statistik menggunakan *one way annova*. Dari hasil statistik terdapat perbedaan bermakna pada berat badan tikus antar kelompok setelah diberikan diet tinggi lemak dengan *p-value* =0,012 (tabel 5).

Pengukuran gula darah puasa akhir durasi kelompok. Pada kelompok P1 durasi 1 minggu dan kelompok kontrol positif serta kelompok P2 3 minggu. Analisis statistik pada pengukuran gula darah puasa antar kelompok sesuai durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 tidak memenuhi syarat dilakukan uji *one way anova* sehingga menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan didapatkan hasil *p-value*= 0,002, sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar gula darah puasa sesudah diinduksi *streptozotocin* (tabel 6). Pengukuran gula darah puasa menggunakan glukometer merk *Accu Chek*. Darah kapiler diambil dari ekor tikus.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus Sebelum dan Sesudah diberikan Intervensi Diet Tinggi Lemak

Berat Badan (gram)				
Kelompok (n=6)	Sebelum intervensi	Setelah intervensi	Selisih BB	P-value
K-	62,83 \pm 9,68	208,16 \pm 12,87	145,33 \pm 3,9	0.000
K+	44,00 \pm 7,70	190,83 \pm 38,76	146,83 \pm 31,0	
P1	47,28 \pm 6,96	132,16 \pm 50,49	84,88 \pm 43,5	
P2	48,00 \pm 6,53	171,66 \pm 34,17	123,66 \pm 27,6	

Uji *Paired T-Test*, dibandingkan sebelum dan setelah intervensi diet tinggi lemak. Data disajikan dalam bentuk *Mean \pm SD*

Tabel 5. Hasil Pengukuran Berat Badan antar Kelompok Setelah Induksi Diet Tinggi Lemak

Kelompok	Berat Badan Setelah Induksi Diet Tinggi Lemak (gram)	p-value
K-	208,16 ± 12,87	0,012
K+	190,83 ± 38,76	
P1	132,16 ± 50,49	
P2	171,66 ± 34,17	

Uji *One Way Annona*. Data disajikan dalam bentuk *Mean ± SD*. Uji *Post Hoc Tukey* Kelompok K- vs Kelompok P1= 0,009

Tabel 6. Hasil Pengukuran Gula Darah Puasa Akhir antar Kelompok

Kelompok	GDP Akhir	P-value
K-	96,00 ± 19,11	0,002
K+	194,8 ± 114,0	
P1	294,1 ± 188,8	
P2	150,6 ± 31,82	

Uji *Kruskal Wallis* dengan durasi diabetes melitus tipe 2 sesuai kelompok.

Data disajikan dalam bentuk *Mean ± SD*

4.1.3 Hasil Pengukuran Durasi Mengalami Diabetes Melitus Tipe 2 Terhadap Memori Spasial

Pengukuran memori spasial pada tikus menggunakan kurvimeter merk Silva Sweden AB Box 998 SE-191. Pada penelitian ini menggunakan parameter waktu tempuh tikus menemukan landasan (*Escape Latency*), panjang lintasan tikus menemukan landasan, uji sensori motorik untuk mengukur memori spasial tikus. Uji statistik untuk melihat perbedaan memori spasial sebelum dan sesudah mengalami diabetes melitus menggunakan *paired T-test* atau Wilcoxon. Pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 terhadap memori spasial tikus menggunakan uji *one way ANOVA* atau *Kruskal Wallis*.

a. *Escape Latency*

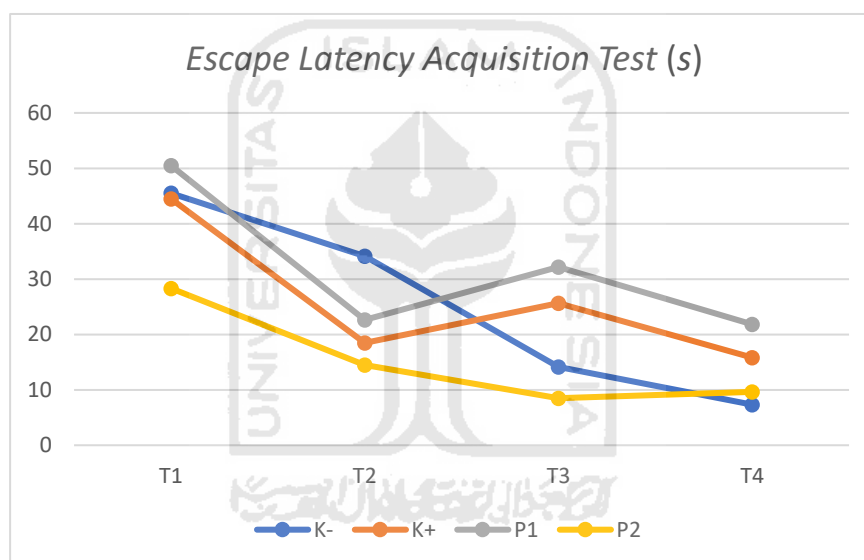
Data ini merupakan waktu yang dihabiskan tikus menemukan landasan yang tersembunyi pada acquisition test, pada kuadran target (*probe test*) dan mencapai landasan terlihat pada uji sensori motorik. Data yang diperoleh dilihat hubungan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2

dengan *escape latency* pada *acquisition test*, *probe test* dan uji sensori motorik.

Tabel 7. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap *escape latency acquisition test* setelah di induksi diabetes melitus tipe 2

<i>Escape Latency Acquisition Test (detik)</i>					
Kelompok	n	<i>Trial 1</i>	<i>Trial 2</i>	<i>Trial 3</i>	<i>Trial 4</i>
K-	6	45,5 ± 16,1	34,1 ± 19,4	14,1 ± 11,5	7,33 ± 4,13
K+	6	44,5 ± 24,1	18,5 ± 14,7	25,6 ± 26,8	15,8 ± 13,3
P1	6	50,5 ± 18,0	22,6 ± 18,4	32,1 ± 20,4	21,8 ± 18,7
P2	6	28,3 ± 18,4	14,5 ± 8,16	8,50 ± 5,95	9,66 ± 9,47
<i>p-value</i>		0,184	0,275	0,243	0,307

Uji Kruskal-Wallis. Data disajikan dalam *Mean ± SD*



Gambar 8. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan *escape latency acquisition test*

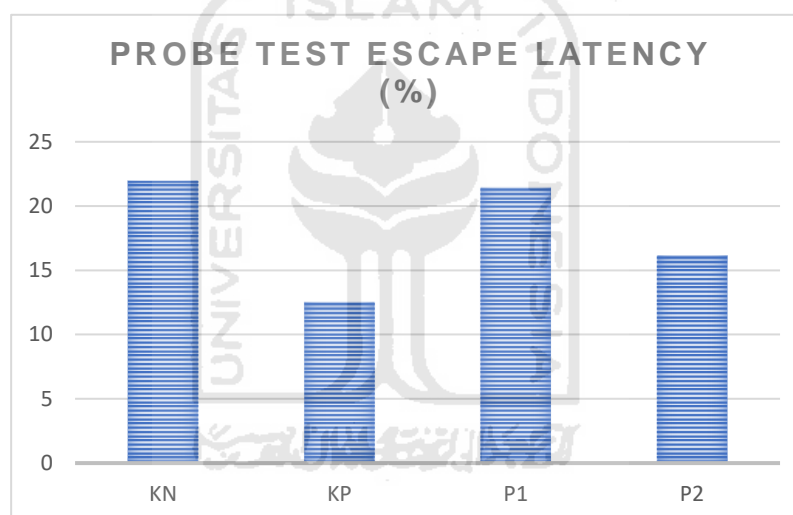
Data *escape latency acquisition test* menunjukkan persebaran data yang tidak normal dalam *Shapiro Wilk Test* dengan nilai $p < 0,005$ sehingga menggunakan uji non-parametrik yaitu uji Kruskal Wallis. Berdasarkan gambar 6, pada *trail* ke-1 tidak terdapat beda signifikan pada *escape latency* antar kelompok dengan hasil analisis statistik $p = 0,184$. Pada *trail* ke-2 tampak tren penurunan dibandingkan *trail* ke-1 pada semua kelompok dengan hasil analisis statistik $P = 0,275$. Pada *trail* ke-3 kelompok K+ dan kelompok P1 mengalami tren penurunan *escape latency* dibandingkan *trail* ke-2. Kelompok K- dan kelompok P2 mengalami peningkatan *escape latency*

pada *trail* ke-2 dengan hasil analisis statistik $P= 0,243$. Sedangkan, *trail* ke-4 pada kelompok P2 mengalami peningkatan *escape latency* dibandingkan kelompok K-,K+ dan P1 yang mengalami tren penurunan *escape latency* dan didapatkan hasil analisis statistic $P=0,307$.

Tabel 8. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap persen *escape latency probe test*

Kelompok	n	<i>Escape Latency</i> pada Probe Test (%)	p-value
K-	6	21,9 ± 7,40	0,067
K+	6	12,5 ± 4,80	
P1	6	21,3 ± 4,76	
P2	6	16,2 ± 8,60	

Uji *one way anova*. Data disajikan dalam *Mean ± SD*



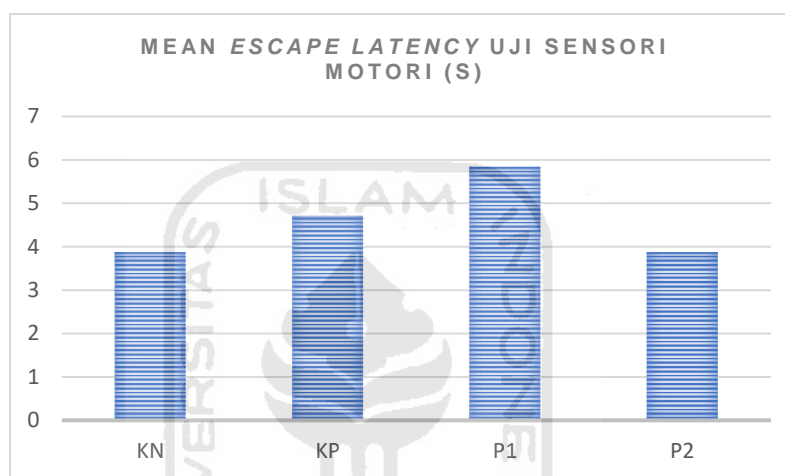
Gambar 9. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan persen *probe test*

Data *escape latency probe test* menunjukkan persebaran data yang normal dalam *Shapiro-Wilk Test* dengan nilai $p>0,005$. Uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai $p = 0,468$ yang menunjukkan bahwa data memiliki variansi homogen. Uji *One Way Anova* terhadap hubungan durasi mengalami diabetes melitus dengan persentase *escape latency probe test* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan nilai $p\text{-value} = 0,067$. Dari grafik persentase *escape latency probe test* (gambar 7) terlihat bahwa kelompok positif dan P2 memiliki persen *escape latency probe test* yang lebih rendah dibandingkan kelompok negatif dan kelompok P1.

Tabel 9. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap *escape latency* pada uji sensori motorik

		n	Escape Latency pada Uji Sensori Motorik (detik)	p-value
Kelompok	K-	6	3,87 ± 0,70	0,344
	K+	6	4,70 ± 2,08	
	P1	6	5,83 ± 2,29	
	P2	6	3,87 ± 1,04	

Uji Kruskal Wallis. Data disajikan dalam *Mean ± SD*



Gambar 10. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok dengan mean *escape latency* pada uji sensori motorik

Data mean *escape latency* uji sensori motorik menunjukkan persebaran data yang normal dalam *Shapiro Wilk Test* dengan nilai $p > 0,005$ namun variasi data tidak homogen dengan $p = 0,045$ sehingga tidak memenuhi syarat uji ANOVA dan analisis statistik menggunakan uji non-parametrik. Hasil analisis Kruskal-Wallis pada uji sensori motorik dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 yang signifikan bermakna dengan mean *escape latency* uji sensori motorik pada tikus karena nilai $p = 0,344$ ($P > 0,005$).

b. Panjang lintasan

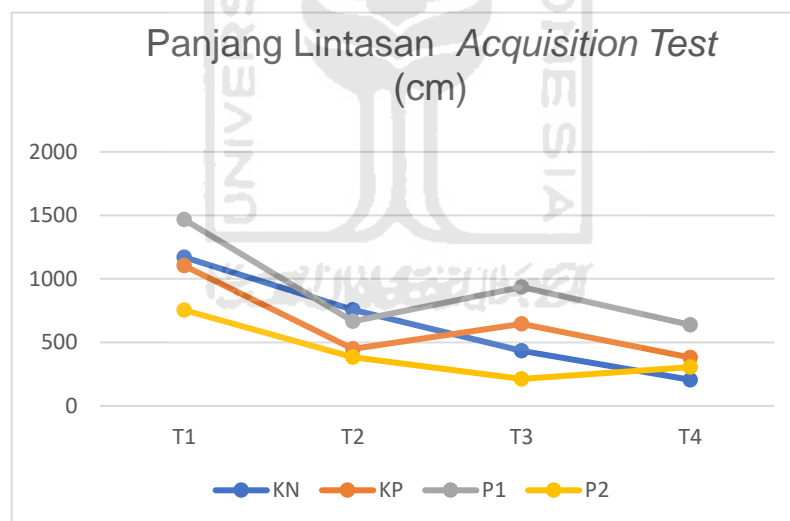
Data ini merupakan panjang lintasan yang digunakan tikus untuk menemukan landasan yang tersembunyi pada *acquisition test*, pada kuadran target (*probe test*) dan mencapai landasan terlihat pada uji sensori motorik. Data yang diperoleh dilihat hubungan durasi mengalami diabetes melitus tipe

2 dengan panjang lintasan pada *acquisition test*, *probe test* dan uji sensori motorik.

Tabel 10. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok dengan panjang lintasan tikus mencapai landasan tersembunyi pada *acquisition test*

Panjang Lintasan <i>Acquisition Test</i> (meter)					
Kelompok	n	<i>Trial 1</i>	<i>Trail 2</i>	<i>Trail 3</i>	<i>Trail 4</i>
K-	6	1170,5 ±	757,5 ±	433,9 ±	205,6 ±
		561,1	600,5	331,0	118,9
K+	6	1103,4 ±	448,6 ±	645,0 ±	381,3 ±
		569,0	355,6	690,1	280,6
P1	6	1466,9 ±	666,3 ±	934,6 ±	638,6 ±
		652,8	616,0	584,4	532,7
P2	6	754,4 ±	382,8 ±	212,5 ±	305,7 ±
		475,25	216,8	241,9	270,8
P-Value		0,223	0,544	0,023	0,487

Uji *One Way Anova* pada *trail 1* dan uji *Kruskal-Wallis* pada *trail 2*, *trail 3* dan *trail 4*. Data disajikan dalam *Mean ± SD*.



Gambar 11. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan panjang lintasan pada *acquisition test*

Data panjang lintasan *acquisition test* menunjukkan persebaran data yang normal dalam *Shapiro Wilk Test* dengan nilai $p > 0,005$ pada *trail ke-1* sehingga menggunakan uji *one way anova* dan didapatkan tidak terdapat beda signifikan pada panjang lintasan *acquisition test* antar kelompok dengan nilai $p = 0,223$. Berdasarkan gambar 9 *trail ke-2* tampak tren penurunan panjang lintasan dibandingkan *trail ke-1* pada semua kelompok dengan hasil

uji *Kruskal Wallis* $p=0,544$. *Trail* ke-3 kelompok K+ dan kelompok P1 mengalami tren peningkatan panjang lintasan dibandingkan *trail* ke-2. Sedangkan kelompok K- dan kelompok P2 mengalami penurunan panjang lintasan pada *acquisition test* dengan uji *Kruskal Wallis* $p=0,023$ yang menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok. *Trail* ke-4 pada kelompok P2 mengalami peningkatan panjang lintasan dibandingkan *trail* ke-3. Sedangkan kelompok K-, K+ dan P1 mengalami tren penurunan panjang lintasan dibandingkan dengan *trail* ke-3 dan didapatkan hasil uji *Kruskal Wallis* $p=0,487$.

Tabel 11. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap persen panjang lintasan *probe test*

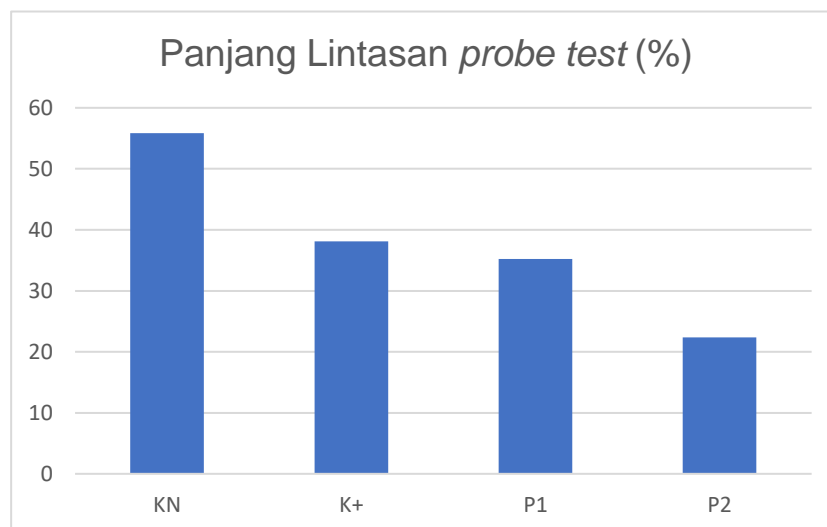
Kelompok	n	Panjang Lintasan pada Probe Test (%)	p-value
K-	6	55,8 ± 12,0	0,000
K+	6	38,1 ± 8,01	
P1	6	35,3 ± 14,7	
P2	6	22,5 ± 5,46	

Uji *one way anova*. Data disajikan dalam *Mean ± SD*

Tabel 12. Analisis *post hoc* pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap persen panjang lintasan *probe test*

Kelompok	Perbedaan rerata	CI 95%		P-value
		Minimum	Maksimum	
K- vs K+	17,67	0,38	34,9	0,044*
K- vs P1	20,5	3,21	37,7	0,017*
K- vs P2	33,3	16,04	50,61	0,000*
K+ vs P1	2,83	-14,45	20,11	0,967
K+ vs P2	15,6	-1,61	32,9	0,084
P1 vs P2	12,83	-4,45	30,11	0,194

Uji *post hoc Tukey*. Jumlah subjek setiap kelompok 6. * $p<0,005$



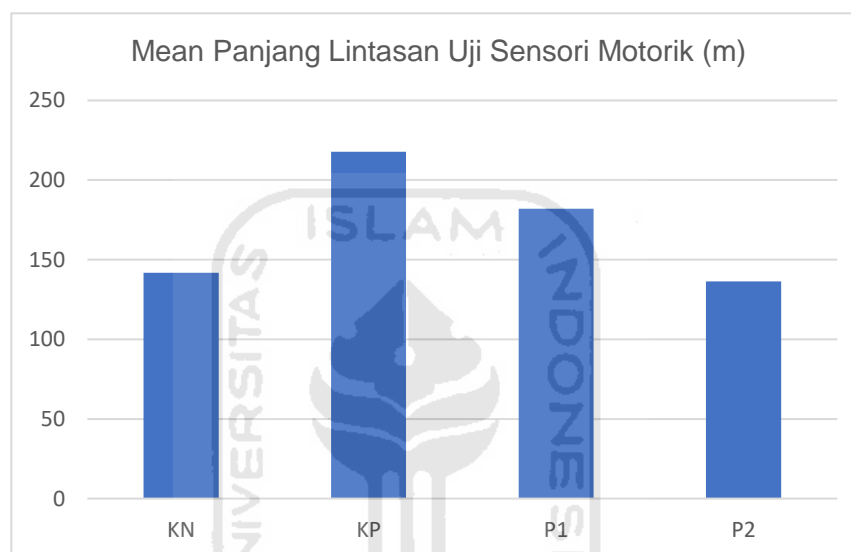
Gambar 12. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan persen panjang lintasan *probe test*

Data persentase panjang lintasan *probe test* menunjukkan persebaran data yang normal dalam *Shapiro-Wilk Test* dengan nilai $p > 0,05$. Uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai $p = 0,267$ yang menunjukkan bahwa data memiliki variansi homogen. Uji *One Way Anova* didapatkan hasil yang signifikan bermakna pada durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok dengan persentase panjang lintasan pada *probe test* yang ditunjukkan dari nilai $p = 0,000$. Uji *post hoc Tukey* menunjukkan adanya perbedaan rerata persentase panjang lintasan pada *probe test* yang signifikan antar kelompok K- dengan kelompok K+ dengan nilai $p = 0,044$. Kelompok K- dengan kelompok P1 juga menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,017$. Selain itu, Kelompok K- dengan kelompok P2 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,000$. Dari grafik persentase panjang lintasan *probe test* (gambar 10) terlihat bahwa kelompok K- memiliki persentase panjang lintasan pada *probe test* tertinggi. Kemudian paling besar ke-2 dari kelompok K+ diikuti kelompok P1 dan kelompok P2 memiliki persentase panjang lintasan terkecil pada *probe test*.

Tabel 13. Hasil pengukuran durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok terhadap panjang lintasan pada uji sensori motorik

Kelompok	n	Panjang Lintasan Uji Sensori Motorik	p-value
K-	6	141,8 ± 41,5	0,197
K+	6	217,8 ± 120	
P1	6	182,0 ± 58,9	
P2	6	136,3 ± 26,5	

Uji *Kruskal Wallis*. Data disajikan dalam *Mean ± SD*



Gambar 13. Grafik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 antar kelompok dengan mean panjang lintasan pada uji sensori motorik

Data mean panjang lintasan uji sensori motorik menunjukkan persebaran data yang normal dalam *Shapiro Wilk Test* dengan nilai $p > 0,005$. Uji homogenitas menggunakan *Levene Test* menunjukkan nilai $P = 0,051$ sehingga memenuhi syarat untuk uji ANOVA. Analisis statistik *One Way Anova* menunjukkan tidak terdapat perbedaan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 yang signifikan bermakna dengan mean panjang lintasan pada uji sensori motorik pada tikus karena $p\text{-value} = 0,197$ ($P > 0,005$).

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis statistik pengukuran memori spasial dengan parameter *escape latency* dan panjang lintasan pada *acquisition test* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok pada *trail* ke-1. Hal ini disebabkan tikus baru pertama kali mengalami poses belajar. Pada *trail* ke-2 terlihat adanya penurunan *escape latency* pada semua

kelompok dibanding *trail* ke-1. Ini menunjukkan tikus sudah mengalami proses belajar dari *trail* sebelumnya dan hasil analisis statistik dengan *Kruskal Wallis* tidak ada perbedaan antar kelompok pada *escape latency* dan panjang lintasan. Lebih sedikitnya waktu yang digunakan untuk menemukan landasan dan menghabiskan waktu lebih banyak di kuadran target diinterpretasikan bahwa tikus telah mempelajari lokasi landasan relatif terhadap sensori visual ekstra-maze (Barnhart, 2015). Penurunan hasil *escape latency* dan panjang lintasan menggambarkan peningkatan memori (Mehta and Banerjee, 2018). Setiap percobaan memberikan informasi spasial yang akan dipelajari dan diintegrasikan ke dalam ruangan peta kognitif dan ini digunakan untuk mengurangi waktu latensi dan panjang lintasan tikus mencapai landasan (Feldman *et al*, 2010). Durasi memori pada percobaan tergantung pada jumlah percobaan dan jumlah waktu yang diberikan di antara percobaan, dimana interval antar percobaan yang lebih lama menghasilkan peningkatan memori (Da Silva *et al*, 2013; Feldman *et al*. 2010).

Pada *trail* ke-3 menunjukkan penurunan *escape latency* dan panjang lintasan pada *acquisition test trail* ke-3 dibanding *trail* ke-2 terjadi pada kelompok K- dan P2 sedangkan kelompok K+ dan kelompok P1 mengalami peningkatan (Gambar 6 dan 9). Pada penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al* (2018), juga menunjukkan perbedaan yang signifikan meningkat pada latensi kelompok yang di induksi *streptozotocin* (STZ). Pada grafik gambar 6 dan 9, menunjukkan kelompok P1 memiliki latensi dan panjang lintasan pada *acquisition test* yang lebih tinggi untuk mencapai landasan tersembunyi dibandingkan kelompok K+ dan P2. Kelompok P1 memiliki durasi diabetes melitus tipe 2 selama 1 minggu. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al* (2012), bahwa metabolit pada otak tikus Spargue Dawley dewasa seperti β -hidroksibutirat, gliserofosforil-kolin, Ins, dan protein Taurin akan meningkat dengan cepat pada hiperglikemia akut dimana kondisi hiperglikemia akut pada penelitian tersebut 3 hari setelah induksi diabetes melitus atau satu hari setelah perkembangan hiperglikemia. Pada hari ke 15 mencapai fase plateu dan pada fase kronik dipertahankan pada level yang lebih tinggi. Peningkatan senyawa tersebut mengubah regulasi osmotik di otak pada fase kronik yang diikuti peningkatan oksidatif stres dan kerusakan integritas saraf pada fase kronik (lebih dari 4 minggu). Pada *escape latency*

trail ke-3 menunjukkan hasil analisis statistik yang tidak signifikan berbeda antar kelompok namun parameter memori spasial dengan panjang lintasan menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok. Hal ini dimungkinkan parameter memori spasial lebih sensitif menggunakan panjang lintasan tikus daripada parameter *escape latency* (Gehring et al., 2015).

Pada *trail* ke-4 hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok. Penurunan *escape latency* dan panjang lintasan pada *trail* ke-4 dibanding *trail* ke-3 terjadi pada kelompok K-, K+ dan P1. Sedangkan kelompok P2 terjadi peningkatan *escape latency* dan panjang lintasan dibanding *trail* ke-3. Kelompok P2 memiliki durasi diabetes melitus tipe 2 selama 3 minggu. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Rajashree (2011), menunjukkan bahwa penurunan kognitif memburuk dengan meningkatnya durasi hiperglikemia. Hal tersebut ditunjukkan dari hasil penelitiannya mengenai efek durasi diabetes terhadap kebiasaan dan kognitif pada tikus yang diinduksi diabetes melitus tipe 1 bahwa memori hari ke-2 berbeda signifikan meningkat pada latensi di bandingkan hari ke-1 dan terdapat perbedaan latensi yang signifikan meningkat pada durasi 20 hari dibandingkan pada durasi 10 hari. Kondisi tikus pada kelompok durasi 20 hari mengalami diabetes melitus kira-kira setara dengan 2 tahun penderita diabetes pada manusia, dan kelompok ini menunjukkan peningkatan defisit kognitif dibandingkan dengan kelompok dengan durasi 10 hari mengalami diabetes melitus.

Dari hasil diatas menunjukkan kelompok K- mengalami penurunan dari *trail* ke-1 sampai *trail* ke-4 yang berarti tikus pada kelompok ini mengalami proses belajar pada setiap *trail*. Hasil penelitian ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Pahlavan (2012), pada penelitiannya mengenai pembelajaran sebelum dan sesudah pada tikus yang sehat, *morris water maze* menunjukkan waktu *escape latency* berkurang menjelang akhir *acquisition test*, yang menunjukkan peningkatan rata-rata memori dan tikus menghabiskan lebih banyak waktu di kuadran target (*probe test*). Hasil ini juga sama dengan penelitian pada tikus sehat yang diberikan 15 percobaan perhari. Setiap percobaan diberi waktu 60 detik untuk menemukan landasan dan istirahat selama 10 detik sebelum memulai percobaan selanjutnya. Kemudian dilakukan *probe test* setelah 30 setelah percobaan ke-15 dan didapatkan

peningkatan memori yang stabil di seluruh percobaan. Peningkatan memori tersebut di tunjukkan oleh penurunan latensi pada landasan tersembunyi atau landasan yang terlihat dari permukaan air (Feldman *et al*, 2010).

Probe test pada *morris water test* dapat mengetahui memori retensi atau memori referensi pada tikus (Vorhees *et al*, 2010). Penelitian Lin *et al* (2018) menunjukkan bahwa tikus diabetes yang diinduksi STZ menunjukkan gangguan memori referensi dan memori kerja pada *morris water maze*. Dengan demikian, STZ tidak hanya mengganggu perolehan pembelajaran dan memori jangka pendek tetapi juga mengganggu memori *retrieval* dan memori jangka panjang. Hasil analisis data persentase *scape latency probe test* pada penelitian ini tidak signifikan dimungkinkan paparan diabetes melitus pada tikus percobaan penelitian ini kurang lama yaitu durasi diabetes melitus yang digunakan pada penelitian ini 1 minggu dan 3 minggu. Studi Palleria *et al* (2017), mengungkapkan bahwa STZ akan merusak kinerja spasial dan memori referensi pada *morris water maze* dari 1 bulan sampai 6 bulan setelah induksi.

Namun pada panjang lintasan *probe test* hasil analisis statistik menunjukkan hasil yang signifikan bermakna antar kelompok. Hal ini dimungkinkan panjang lintasan lebih sensitif digunakan untuk menunjukkan gambaran memori spasial dari pada *escape latency* (Gehring *et al.*, 2015). Dari hasil diatas dapat dimungkinkan memori referensi yang ditunjukkan dari hasil persen panjang lintasan *probe test* sudah mulai terganggu. Berdasarkan penelitian yang di lakukan oleh Wang *et al* (2012), kondisi hiperglikemia pada subjek yang diuji menunjukkan setelah 2 minggu hingga sebelum memasuki 4 minggu berada pada fase plateu. Namun kondisi hiperglikemia pada subjek penelitian ini adalah tikus remaja sehingga dimungkinkan kondisi hiperglikemia menjadi lebih buruk akibat hormon pertumbuhan yang aktif pada saat remaja yang dapat menekan ambilan glukosa pada jaringan adiposa. Pada studi *in vivo* menunjukkan bahwa hormone pertumbuhan pada tikus dapat menekan *glucose transporter 1* (GLUT 1) dan *glucose transporter 4* (GLUT 4) pada membrane plasma jaringan adiposa (Kim and Park, 2017).

Pada gambar 7 dan 10 grafik penelitian ini menunjukkan kelompok K- memiliki persentase *escape latency* dan panjang lintasan *probe test* paling tinggi dibandingkan kelompok lain. Hal ini sejalan dengan penelitian yang

dilakukan oleh Liu *et al* (2018), yang menunjukkan tikus sehat menghabiskan lebih banyak waktu di kuadran target dan tikus dalam kelompok diabetes menghabiskan lebih sedikit waktu di kuadran target yang menunjukkan gangguan fungsi memori dan defisit pembelajaran spasial. Pada gambar 7 Kelompok K+ memiliki hasil persentase *escape latency probe test* yang paling rendah dari pada kelompok lain dan grafik pada gambar 10 menunjukkan kelompok P2 memiliki hasil persentase *escape latency probe test* yang paling rendah dari pada kelompok lain. Hal ini dimungkinkan pada kelompok K+ dan kelompok P2 memiliki durasi diabetes melitus yang lebih lama dari pada kelompok P1. Kelompok K+ dan kelompok P2 memiliki durasi 3 minggu mengalami diabetes melitus.

Namun pada analisis statistik durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 terhadap uji sensori motorik (tabel 12) menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini berarti sehubungan dengan latensi, diindikasikan bahwa semua kelompok memiliki tingkat kemampuan sensori motorik yang sebanding dan dorongan motivasi dalam percobaan pada landasan yang terlihat (Yuliani *et al*, 2018). Hasil yang sama ditunjukkan pada penelitian Lin *et al* (2018), dimana antara kelompok diabetes dan kelompok normal tidak menunjukkan hasil yang signifikan. Hasil ini konsisten dengan laporan studi lainnya bahwa *streptozotocin* tidak menurunkan fungsi visual dan menginduksi retinopati diabetes tahap awal dalam waktu 6 minggu setelah induksi.

Hasil analisis statistik pada hubungan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 dengan memori spasial meskipun terdapat hasil yang signifikan berbeda antar kelompok namun tidak konsisten pada setiap parameter. Hal ini dimungkinkan karena paparan diabetes melitus tipe 2 yang kurang lama (Bedi and Dang, 2017) Meskipun belum ada hasil yang konsisten mengenai hubungan durasi diabetes melitus tipe 2 dengan memori spasial pada tikus remaja, beberapa mekanisme yang mendasari efek durasi diabetes melitus tetap dapat dijelaskan secara ilmiah.

Neurotoksisitas glukosa karena hiperglikemia yang tidak terkontrol berkontribusi pada disfungsi seluler. Hiperglikemia kan menyebabkan peningkatan aktivitas jalur *polyol*, meningkatkan pembentukan *advanced glycation end-products* (AGEs), meningkatkan jalur hexosamine. Selain itu,

sel endotel di pembuluh serebral lebih rentan mengalami kerusakan akibat hiperglikemia dibandingkan sel-sel di otak parenkim. Kerusakan pembuluh darah otak dapat menyebabkan gangguan permeabilitas *blood brain barrier* (BBB) pada diabetes, serta pada penuaan dan gangguan neurodegeneratif. Penurunan pensinyalan insulin berkontribusi pada suplai energi yang buruk untuk aktivitas otak. Pengikatan insulin pada reseptor insulin akan mengaktifkan substrat reseptor insulin seperti IRS1 dan IRS2 yang kemudian diaktifkan sinyal kaskade untuk regulasi fungsi otak, termasuk proses metabolisme di sel-sel otak yang berbeda (Mullins *et al*, 2017).

Kondisi diabetes dengan adanya paparan diet tinggi lemak atau gula jangka pendek ataupun jangka panjang menyebabkan kerusakan sinaptik yang menghasilkan kerusakan neurotransmitter dan plastisitas sinaptik di hipokampus (Girault *et al*, 2019). Kondisi pemberian diet tinggi lemak jangka panjang (4 bulan) menunjukkan peningkatan ekspresi sitokin pro inflamasi pada hipokampus tikus seperti IL-6, IL1 β dan TNF α . Pemberian diet tinggi lemak jangka pendek selama 7 hari pada tikus *spargue dawley* dewasa dapat menurunkan pensinyalan insulin hipokampus disertai dengan beberapa modifikasi sitoskeletal, kerusakan dendritik hipokampus dan peningkatan reaktivasi astrosit yang dihubungkan dengan perubahan mikroglial (Calvo-Ochoa *et al*, 2014). Proliferasi mikroglial juga berkaitan dengan usia saat terpapar diet tinggi lemak. Tikus yang tua tampaknya lebih rentan terhadap pengembangan diet tinggi lemak yang menginduksi neuroinflamasi (Spencer *et al*, 2019). Efek diet diabetogenik seperti tinggi fruktosa atau sukrosa selama 1 bulan telah diobservasi bahwa tidak berdampak pada obesitas, memicu penurunan memori dengan beberapa neuroinflamasi pada hipokampus di tikus remaja tetapi tidak terjadi pada tikus dewasa. Singaktnya, profil neuroinflamasi tidak hanya berubah dengan durasi paparan diet tinggi lemak, tetapi juga tergantung pada onset usia (Hsu *et al*, 2015).

Model diet tinggi lemak dengan STZ untuk meniru kondisi klinis diabetes melitus tipe 2 dari kondisi transisi resisten insulin (kondisi pra-diabetes yang disebabkan oleh diet tinggi lemak) ke kondisi hiperglikemik yang sesungguhnya (STZ). Induksi diet tinggi lemak jangka pendek dan STZ pada tikus wistar remaja menunjukkan penurunan ekspresi protein GLUT4 sitosol di hipokampus tikus, di mana kadar protein GLUT4 sitosol dan

membran GLUT4 yang dimediasi P-Akt translokasi di neuron hipokampus berkurang selama diabetes. Hal ini menginduksi gangguan regulasi insulin diikuti oleh gangguan sinyal Akt yang memicu rendahnya ambilan glukosa. Selain itu, terjadi penurunan ekspresi BDNF yang merupakan salah satu anggota neurotrophin di hipokampus dan korteks. Senyawa ini merupakan faktor pertumbuhan yang bertanggung jawab untuk neurogenesis, pembentukan sinapsis baru yang di mediasi oleh *N-methyl-D-aspartate Receptor* (NMDAR) untuk pembentukan memori. Inhibisi aktivitas BDNF memicu penurunan kognisi seperti kecepatan belajar dan kemampuan *recalling* (Hussain and Samijaya, 2018).

Durasi dan keparahan mengalami diabetes melitus menjadi penting sebagai patofisiologi penurunan kognitif pada diabetes. Durasi diabetes melitus yang lama berhubungan dengan kelainan makrovaskular otak seperti infark yang mungkin menurunkan fungsi kognitif. Keparahan diabetes melitus berhubungan dengan hiperglikemia kronis yang berkontribusi menyebabkan kerusakan neuronal dan atrofi otak. Mekanisme alternative yang mendasari kelainan vaskular sebagai pathogenesis penurunan kognitif pada diabetes yaitu peningkatan agregasi β -amyloid akibat defek aksi insulin (Robert *et al*, 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al* (2012), menunjukkan perubahan neurokimia pada hiperglikemik akut dan kronik pada otak terhadap perubahan memori. Pada penelitian tersebut durasi diabetes melitus dibagi menjadi hiperglikemia hari pertama, hari ke-15, 29,43,57 dan 71. Hiperglikemia kronis dalam penelitian tersebut terjadi ketika lebih dari 29 hari atau 4 minggu. Sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al* (2018) penurunan *working memory* dan memori referensi pada tikus diabetes terjadi 1 bulan setelah diinduksi STZ. Penelitian yang dilakukan oleh Mehta dan Banrajee (2017) juga menunjukkan penurunan memori pada tikus *spargue dawley* dewasa muda yang diinduksi diet tinggi lemak selama 1 bulan dan STZ 25mg/kg. Namun, pada penelitian yang dilakukan Cerasuolo dan Izzo (2017), menunjukkan penurunan memori pada hiperglikemia akut dan penelitian yang dilakukan oleh Rajashree *et al* (2011) menunjukkan penurunan memori pada tikus wistar neonatus dihari ke 20 setelah diinduksi STZ 50 mg/kg.

Beberapa kelemahan dari penelitian ini yaitu metode pemberian diet tinggi lemak tidak di sonde dan paparan diabetes melitus yang kurang lama sehingga efek dari diabetes melitus tipe 2 kurang efektif. Selain itu, pengulangan uji *morris water maze* pada tikus yang sama menyebabkan penilaian memori spasial kurang objektif. Hasil dari penelitian belum dapat menjawab hubungan durasi diabetes melitus tipe 2 terhadap memori spasial pada tikus remaja.



BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hubungan durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 berhubungan dengan *escape latency acquisition test* pada *trail* ke-3 dan panjang lintasan *probe test* pada tikus remaja yang diinduksi *streptozotocin* dan diet tinggi lemak.

5.2 Saran

Penulis memberikan beberapa saran agar penelitian mengenai hubungan durasi diabetes melitus tipe 2 dengan memori spasial pada tikus remaja yang diinduksi *streptozotocin* dan diet tinggi lemak menjadi lebih baik:

1. Diperlukan penelitian dengan 2 kelompok kontrol sesuai durasi mengalami diabetes melitus tipe 2 yang digunakan atau dengan menggunakan lebih dari satu uji memori spasial untuk mengkonfirmasi memori spasial sebelum dan sesudah induksi diabetes melitus tipe 2
2. Diperlukan metode sonde untuk pemberian diet tinggi lemak dan pengukuran profil lipid pada subjek penelitian untuk mengkonfirmasi tikus dalam keadaan hiperlipidemi
3. Diperlukan tikus neonatus untuk memulai penelitian diabetes melitus tipe 2 pada tikus remaja supaya paparan diet tinggi lemak dan STZ dapat lebih lama

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018, *Riset Kesehatan Daerah; RISKESDAS*, Jakarta: Balitbang Kemenkes RI
- Barnhart, C.D., Yang, D. & Lein, P.J., 2015. Using the Morris Water Maze to Assess Spatial Learning and Memory in Weanling Mice. , pp.1–16.
- Bedi, U. and Dang, B. K. (2017), Association of duration of type 2 diabetes with short term and working memory, 5(11), pp. 4724–4727.
- Bellou, V. *et al* ,2018,Risk factors for type 2 diabetes mellitus : An exposure-wide umbrella review of meta- analyses', pp. 1–27.
- Buphatiraju S., Hu F., 2016, Epidemiology of Obesity and Diabetes and Their Cardiovascular Complications, *Circ Res*, 118(11): 1723-1735
- Calvo-Ochoa, E., Hernández-Ortega, K., Ferrera, P., Morimoto, S., and Arias, C. (2014). Short-term high-fat-and-fructose feeding produces insulin signaling alterations accompanied by neurite and synaptic reduction and astroglial activation in the rat hippocampus. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 34, 1001–1008. doi: 10.1038/jcbfm.2014.48
- Cassenti D, Carlson R, 2008, Effect of pacing and working memory load on error type patterns in a routine skill. *Am J Physiol.* 121 (1): 57–81
- Cerasuolo, J. and Izzo, A., 2017,Persistent impairment in working memory following severe hyperglycemia in newly diagnosed type 2 diabetes, *Endocrinology Diabetes & Metabolism Case Reports*
- Da Silva, B., Bast, T. and Morris, R., 2013. Spatial memory: behavioral determinants of persistence in the watermaze delayed matching-to-place task. *Learning & Memory*, 21(1), pp.767-775.
- Dorland W, 2010, Kamus Kedokteran Dorland. Edisi ke-31. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Faselis *et al.*, 2019, Microvascular complications of type 2 diabetes mellitus, *Curr Vasc Pharmacol*, doi: 10.2174/1570161117666190502103733
- Feldman, L., Shapiro, M. and Nalbantoglu, J., 2010, A novel, rapidly acquired and persistent spatial memory task that induces immediate early gene expression, *Behavioral and Brain Functions*, 6(1), p.35
- Gehring, T. V., Luksys, G., Sandi, C., & Vasilaki, E.,2015, Detailed classification of swimming paths in the Morris Water Maze: Multiple strategies within one trial. *Scientific Reports*, 5(1). doi:10.1038/srep14562
- Girault, F.-M., Sonnay, S., Gruetter, R., and Duarte, J. M. N, 2019,Alterations of brain energy metabolism in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats measured in vivo by 13C magnetic resonance spectroscopy, *Neurotox. Res*, 36, 268–278, doi: 10.1007/s12640-017-9821-y
- Guo Z, Zhang R, Li J, *et al.*, 2012, Effect of telmisartan on the expression of adiponectin receptors and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase in the heart and aorta in type 2 diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*; 11: 94. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- Guyton AC, Hall JE, 2007, Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi ke-11. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Hamed, S. A. *et al.*,2012,Neuropsychological , Neurophysiological Markers of Direct Brain Injury in Type 2 Diabetes Mellitus, 3(1), pp. 1–11. doi: 10.3823/326.

- Heras-Sandoval D, Ferrera P, Arias C. Amyloid-beta protein modulates insulin signaling in presynaptic terminals. *Neurochem Res.* 2012; 37(9):1879–85. [PubMed: 22638775]
- Huang, D. *et al.*, 2017, Macrovascular Complications in Patients with Diabetes and Prediabetes',
- Hussain, Y., Jain, S. K. and Samaiya, P. K. (2018), Short-term westernized (HFFD) diet fed in adolescent rats: Effect on glucose homeostasis, hippocampal insulin signaling, apoptosis and related cognitive and recognition memory function, *Behavioural Brain Research*. Elsevier, 361(December), pp. 113–121. doi: 10.1016/j.bbr.2018.12.042
- Hsu, T. M., Konanur, V. R., Taing, L., Usui, R., Kayser, B., Goran, M. I., et al, (2015), Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats, *Hippocampus* 25, 227–239. doi: 10.1002/hipo.22368
- International Diabetes Federation (IDF), 2015, IDF Diabetes Atlas 87h Edition 2017, URL : <http://www.idf.org> [di akses tanggal 28 Agustus 2019]
- Japardi I, 2002, Learning and Memory, Fakultas Kedokteran bagian Bedah: Universitas Sumatera Utara.
- Jayasimha *et al.*, 2015, Streptozotocin -A Diabetogenic Agent in Animal Models, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*, 1(3)
- John, R. *et al*, 2019, Evaluation of Quality of Life in Type 2 Diabetes Mellitus Patients Using Quality of Life Instrument for Indian Diabetic Patients: A Cross-Sectional Study'. doi: 10.4103/jmh.JMH.
- Kandel E, Schwart JH, Jessel T, 2000, Principles of Neural Science, Edisi ke-4. USA: McGraw-Hill
- Kemenkes RI, 2014, Situasi dan Analisis Diabetes', *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*, p. 2. doi: 24427659.
- Kim, S., Park, M., 2017. Effects of growth hormone on glucose metabolism and insulin resistance in human. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 22(3), pp.145-152.
- Konsue A., Picheansoonthon C., Talubmook C, 2018, Fasting Blood Glucose Levels and Hematological Values in Normal and Streptozotocin –Induced Diabetic Rats of *Mimosa pudica* L.Extracts
- Lascar, N., Brown, J., Pattison, H., Barnett, A. H., Bailey, C. J., & Bellary, S. (2018). Type 2 diabetes in adolescents and young adults. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 6(1), 69–80. [http://doi.org/10.1016/s2213-8587\(17\)30186-9](http://doi.org/10.1016/s2213-8587(17)30186-9)
- Lin, L., Tsai, F., Yang, W., Lai, S., Shih, C., Lee, S. and Wu, C., 2020. Differential change in cortical and hippocampal monoamines, and behavioral patterns in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21, pp.1026-1034.
- Liu, K., Zhao, L., Xu, W., Lin, Q., Zhou, Y., Huang, X., Ye, X., He, J., Bai, G., Yan, Z. and Gao, H., 2018. Metabolic Changes Associated with a Rat Model of Diabetic Depression Detected by Ex Vivo 1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in the Prefrontal Cortex, Hippocampus, and Hypothalamus. *Neural Plasticity*, 2018, pp.1-12
- Mann M, Klemm K, 2011, Efficient exploration of discrete energy landscape. *phys. E. Stat. Nonlin. Soft. Matter Phys.* 83(11): 1-8.

- Mastrangelo ME, Schleich CE, & Zenuto RR, 2008, Short-term effects of an acute exposure to predatory cues on the spatial working and reference memory performance in a subterranean rodent. *Anim Behav.* 77(3): 685–92.
- Mehta, B.K., Banerjee, S. (2018) 'Characterization of Cognitive Impairment in Type 2 Diabetic Rats', (January 2017). doi: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000292
- Moheet, A., Mangia, S., & Seaquist, E. R, 2015, Impact of diabetes on cognitive function and brain structure. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1353(1), 60–71. <http://doi.org/10.1111/nyas.12807>
- Mullins, R. J., Diehl, T. C., Chia, C. W., and Kapogiannis, D, 2017, Insulin resistance as a link between amyloid-beta and tau pathologies in Alzheimer's disease, *Front Aging Neurosci*, 9:118, doi: 10.3389/fnagi.2017.00118
- Palleria C, Leo A, Andreozzi F, Citraro R, Iannone M, Spiga R, *et al*, 2017, Liraglutide prevents cognitive decline in a rat model of streptozotocin-induced diabetes independently from its peripheral metabolic effects, *Behav Brain Res*, 321:157-169
- Pahlavan, P, 2012, Pre- and Post- Morris Water Maze Learning Comparison Expression of Transcription Factors NF- κ B, CREB, and Egr-2, *American Society for Clinical Pathology*, Vol. 138, A356
- Papatheodorou, K. *et al*, 2016, Complications of Diabetes 2016', *Journal of Diabetes Research*. Hindawi Publishing Corporation, 2016. doi: 10.1155/2016/6989453.
- PERKENI, 2015, *Konesensus Pengelolaan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indoensia*, PERKENI, Jakarta
- PERKENI, 2006, *Konesensus Pengelolaan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indoensia*, PERKENI, Jakarta
- Peters, R., 2006, Ageing and the brain, *Postgraduate Medical Journal*, pp. 84–88. doi: 10.1136/pgmj.2005.036665
- Rajashree, R., KholKute, S. and GoudaR, S., 2020. Effects of Duration of Diabetes on Behavioural and Cognitive Parameters in Streptozotocin-Induced Juvenile Diabetic Rats. *Malaysian J Med Sci*, 18(4), pp.26-31
- Riddle, M. C. *et al.* (2018) 'Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes—2018', *Diabetes Care*, 41(Supplement 1), pp. S1–S2. doi: 10.2337/dc18-Sint01
- Roberts, R., Geda, Y., Knopman, D., Christianson, T., Pankratz, V., Boeve, B., Vella, A., Rocca, W. and Petersen, R., 2008, Association of Duration and Severity of Diabetes Mellitus With Mild Cognitive Impairment, *Archives of Neurology*, 65(8)
- Sangupta, 2013, The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's, *Int J Prev Med*, 4(6): 624-630
- Sharma AK, Bharti S, Ojha S, *et al.*, 2011, Up-regulation of PPARgamma, heat shock protein-27 and -72 by naringin attenuates insulin resistance, beta-cell dysfunction, hepatic steatosis and kidney damage in a rat model of type 2 diabetes. *Br J Nutr*, 106: 1713–1723 [PubMed] [Google Scholar]
- Sherwood L, 2014, Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem. Edisi ke-8. Editor Pedit *et al.* Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Shrager, Y. *et al.*, 2007, Spatial memory and the human hippocampus', 104(8).
- Skyler, J. S. *et al.*, 2017, Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis', 66(July 2016), pp. 241–255. doi: 10.2337/db16-0806

- Spencer, S., Basri, B., Sominsky, L., Soch, A., Ayala, M. T., Reineck, P., et al, 2019, High fat diet worsens the impact of ageing on microglial function and morphology in a region-specific manner, *Neurobiol Aging*, 74, 121–134, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.10.018
- Vatandoust, 2018, Novel High-Fat Diet Formulation and Streptozotocin Treatment for Induction of Prediabetes and Type 2 Diabetes in Rats, *Adv Biomed Res*; 7:107
- Vorhees, C. and Williams, M., 2006. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), pp.848-858.
- Wang, W., Lee, P., Yeh, H., Smirnova, I. V., & Choi, I, 2012, Effects of acute and chronic hyperglycemia on the neurochemical profiles in the rat brain with streptozotocin-induced diabetes detected using in vivo ¹H MR spectroscopy at 9.4 T, *Journal of Neurochemistry*, 121(3), 407-417. doi:10.1111/j.1471-4159.2012.07698.x
- World Health Organization, 2019, Adolescent Health and Development, http://www.searo.who.int/entity/child_adolescent/topics/adolescent_health/en/ [diakses tanggal 2 Oktober 2019]
- World Health Organization, 2019, Diabetes. <https://www.who.int/health-topics/diabetes> [diakses pada tanggal 28 Agustus 2019]
- Yuliani, S. and Partadiredja, G, 2018, 'Turmeric (*Curcuma longa* L .) extract may prevent the deterioration of spatial memory and the deficit of estimated total number of hippocampal pyramidal cells of trimethyltin-exposed rats', *Drug and Chemical Toxicology*. Informa Healthcare USA, Inc, 0(0), pp. 62–71. doi: 10.1080/01480545.2017.1293087
- Zilliox, L. A. *et al*, 2017, 'Diabetes and Cognitive Impairment', 16(9). doi: 10.1007/s11892-016-0775-x.Diabetes.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis Data

Karakteristik Subjek

a. Berat Badan Subjek Penelitian

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB_Post	Kelompok Negatif	.277	6	.168	.876	6	.252
	Kelompok Positif	.162	6	.200*	.968	6	.878
	Kelompok P1	.181	6	.200*	.925	6	.545
	Kelompok P2	.161	6	.200*	.960	6	.816
BB_Pre	Kelompok Negatif	.167	6	.200*	.979	6	.948
	Kelompok Positif	.352	6	.019	.821	6	.090
	Kelompok P1	.235	6	.200*	.908	6	.420
	Kelompok P2	.247	6	.200*	.913	6	.459

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	BB_Pre - BB_Post	-125.66667	44.39513	9.06212	-144.41309	-106.92025	-13.867	23	.000

Test of Homogeneity of Variances

BB_Post

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.155	3	20	.125

ANOVA

BB_Post

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19167.125	3	6389.042	4.745	.012
Within Groups	26929.833	20	1346.492		
Total	46096.958	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BB_Post
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok Negatif	Kelompok Positif	17.33333	21.18562	.845	-41.9639	76.6305
	Kelompok P1	76.00000*	21.18562	.009	16.7028	135.2972
	Kelompok P2	36.50000	21.18562	.339	-22.7972	95.7972
Kelompok Positif	Kelompok Negatif	-17.33333	21.18562	.845	-76.6305	41.9639
	Kelompok P1	58.66667	21.18562	.053	-.6305	117.9639
	Kelompok P2	19.16667	21.18562	.803	-40.1305	78.4639
Kelompok P1	Kelompok Negatif	-76.00000*	21.18562	.009	-135.2972	-16.7028
	Kelompok Positif	-58.66667	21.18562	.053	-117.9639	.6305
	Kelompok P2	-39.50000	21.18562	.274	-98.7972	19.7972
Kelompok P2	Kelompok Negatif	-36.50000	21.18562	.339	-95.7972	22.7972
	Kelompok Positif	-19.16667	21.18562	.803	-78.4639	40.1305
	Kelompok P1	39.50000	21.18562	.274	-19.7972	98.7972

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

b. Gula Darah Puasa

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDP_akhir	Kelompok Negatif	.210	6	.200*	.908	6	.423
	Kelompok Positif	.342	6	.027	.739	6	.016
	Kelompok P1	.248	6	.200*	.842	6	.136
	Kelompok P2	.262	6	.200*	.858	6	.182

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
GDP_akhir	Kelompok Negatif	6	3.50
	Kelompok Positif	6	13.92
	Kelompok P1	6	19.00
	Kelompok P2	6	13.58
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	GDP_akhir
Chi-Square	15.178
df	3
Asymp. Sig.	.002

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Pengukuran Memori Spasial

a. Escape Latency

Acquisition test

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
T1	Kelompok Negatif	.242	6	.200*	.885	6	.295
	Kelompok Positif	.406	6	.002	.673	6	.003
	Perlakuan 1	.367	6	.011	.641	6	.001
	Perlakuan 2	.238	6	.200*	.921	6	.515
T2	Kelompok Negatif	.176	6	.200*	.973	6	.914
	Kelompok Positif	.188	6	.200*	.926	6	.552
	Perlakuan 1	.433	6	.001	.616	6	.001
	Perlakuan 2	.166	6	.200*	.967	6	.869
T3	Kelompok Negatif	.307	6	.080	.775	6	.035
	Kelompok Positif	.335	6	.034	.751	6	.020
	Perlakuan 1	.155	6	.200*	.961	6	.831
	Perlakuan 2	.300	6	.098	.793	6	.050
T4	Kelompok Negatif	.293	6	.117	.804	6	.064
	Kelompok Positif	.245	6	.200*	.834	6	.116
	Perlakuan 1	.192	6	.200*	.883	6	.282
	Perlakuan 2	.355	6	.017	.695	6	.006

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
T1	Kelompok Negatif	6	13.08
	Kelompok Positif	6	14.00
	Perlakuan 1	6	15.50
	Perlakuan 2	6	7.42
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	T1
Chi-Square	4.841
df	3
Asymp. Sig.	.184

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
T2	Kelompok Negatif	6	17.08
	Kelompok Positif	6	11.00
	Perlakuan 1	6	12.42
	Perlakuan 2	6	9.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	T2
Chi-Square	3.878
df	3
Asymp. Sig.	.275

- a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable:
Kelompok

Test of Homogeneity of Variances

T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.726	3	20	.001

ANOVA

T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2078.125	3	692.708	2.116	.130
Within Groups	6548.500	20	327.425		
Total	8626.625	23			

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
T3	Kelompok Negatif	6	11.25
	Kelompok Positif	6	13.67
	Perlakuan 1	6	16.50
	Perlakuan 2	6	8.58
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	T3
Chi-Square	4.179
df	3
Asymp. Sig.	.243

- a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable:
Kelompok

Test of Homogeneity of Variances

T4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.443	3	20	.036

ANOVA

T4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	765.000	3	255.000	1.601	.221
Within Groups	3186.333	20	159.317		
Total	3951.333	23			

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
T4	Kelompok Negatif	6	10.08
	Kelompok Positif	6	15.17
	Perlakuan 1	6	15.25
	Perlakuan 2	6	9.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	T4
Chi-Square	3.604
df	3
Asymp. Sig.	.307

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Probe Test

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
EL_PT	Kelompok Negatif	.182	6	.200*	.948	6	.726
	Kelompok Positif	.199	6	.200*	.917	6	.484
	Perlakuan 1	.219	6	.200*	.930	6	.580
	Perlakuan 2	.197	6	.200*	.890	6	.317

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

EL_PT			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.880	3	20	.468

ANOVA

EL_PT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	365.162	3	121.721	2.787	.067
Within Groups	873.611	20	43.681		
Total	1238.773	23			

Uji Sensori Motorik

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.

Mean_EL_SM	Kelompok Negatif	.263	6	.200*	.907	6	.418
	Kelompok Positif	.219	6	.200*	.875	6	.248
	Perlakuan 1	.151	6	.200*	.957	6	.794
	Perlakuan 2	.192	6	.200*	.913	6	.459

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Mean_EL_SM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.207	3	20	.045

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Mean_EL_SM	Kelompok Negatif	6	10.83
	Kelompok Positif	6	12.25
	Perlakuan 1	6	16.83
	Perlakuan 2	6	10.08
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	Mean_EL_SM
Chi-Square	3.330
df	3
Asymp. Sig.	.344

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

b. Panjang Lintasan

Acquisition Test

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
T1	Kelompok Negatif	.340	6	.029	.823	6	.094
	Kelompok Positif	.316	6	.061	.827	6	.102
	Perlakuan 1	.209	6	.200*	.958	6	.804
	Perlakuan 2	.261	6	.200*	.879	6	.265
T2	Kelompok Negatif	.267	6	.200*	.897	6	.355
	Kelompok Positif	.245	6	.200*	.913	6	.459
	Perlakuan 1	.451	6	.000	.565	6	.000
	Perlakuan 2	.186	6	.200*	.976	6	.932
T3	Kelompok Negatif	.340	6	.029	.757	6	.024
	Kelompok Positif	.353	6	.018	.736	6	.015
	Perlakuan 1	.127	6	.200*	.983	6	.966
	Perlakuan 2	.377	6	.008	.737	6	.015
T4	Kelompok Negatif	.396	6	.004	.612	6	.001
	Kelompok Positif	.271	6	.193	.832	6	.111
	Perlakuan 1	.209	6	.200*	.850	6	.157
	Perlakuan 2	.308	6	.077	.754	6	.022

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.130	3	20	.941

ANOVA

T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1540725.407	3	513575.136	1.592	.223
Within Groups	6453867.414	20	322693.371		
Total	7994592.821	23			

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
T2	Kelompok Negatif	6	15.00
	Kelompok Positif	6	10.67
	Perlakuan 1	6	14.17
	Perlakuan 2	6	10.17
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	T2
Chi-Square	2.140
df	3
Asymp. Sig.	.544

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok

Test of Homogeneity of Variances

T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.804	3	20	.011

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
T3	Kelompok Negatif	6	12.33
	Kelompok Positif	6	13.50
	Perlakuan 1	6	18.33
	Perlakuan 2	6	5.83
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	T3
Chi-Square	9.544
df	3
Asymp. Sig.	.023

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
T4	Kelompok Negatif	6	10.17
	Kelompok Positif	6	14.67
	Perlakuan 1	6	14.83
	Perlakuan 2	6	10.33
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	T4
Chi-Square	2.433
df	3
Asymp. Sig.	.487

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Kelompok**Probe Test****Tests of Normality**

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
PL_PT	Kelompok Negatif	.214	6	.200*	.954	6	.773
	Kelompok Positif	.279	6	.157	.826	6	.100
	Perlakuan 1	.192	6	.200*	.965	6	.856
	Perlakuan 2	.225	6	.200*	.942	6	.676

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

PL_PT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.416	3	20	.267

ANOVA

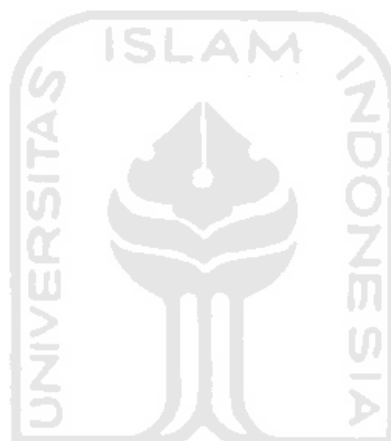
PL_PT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3392.458	3	1130.819	9.883	.000
Within Groups	2288.500	20	114.425		
Total	5680.958	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: PL_PT

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	Kelompok Negatif	Kelompok Positif	17.66667*	6.17589	.044	.3807	34.9526
		Perlakuan 1	20.50000*	6.17589	.017	3.2141	37.7859
		Perlakuan 2	33.33333*	6.17589	.000	16.0474	50.6193
	Kelompok Positif	Kelompok Negatif	-17.66667*	6.17589	.044	-34.9526	-.3807
		Perlakuan 1	2.83333	6.17589	.967	-14.4526	20.1193
		Perlakuan 2	15.66667	6.17589	.084	-1.6193	32.9526
	Perlakuan 1	Kelompok Negatif	-20.50000*	6.17589	.017	-37.7859	-3.2141
		Kelompok Positif	-2.83333	6.17589	.967	-20.1193	14.4526
		Perlakuan 2	12.83333	6.17589	.194	-4.4526	30.1193
	Perlakuan 2	Kelompok Negatif	-33.33333*	6.17589	.000	-50.6193	-16.0474
		Kelompok Positif	-15.66667	6.17589	.084	-32.9526	1.6193
		Perlakuan 1	-12.83333	6.17589	.194	-30.1193	4.4526



Uji Sensori Motorik

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Mean_PL_SM	Kelompok Negatif	.178	6	.200 [*]	.934	6	.609
	Kelompok Positif	.259	6	.200 [*]	.857	6	.179
	Perlakuan 1	.166	6	.200 [*]	.947	6	.718
	Perlakuan 2	.278	6	.162	.883	6	.282

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Mean_PL_SM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.084	3	20	.051

ANOVA

Mean_PL_SM

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26158.127	3	8719.376	1.708	.197
Within Groups	102092.938	20	5104.647		
Total	128251.065	23			

Lampiran 2. Ethical Clearance



MEDICAL AND HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE (MHREC)
FACULTY OF MEDICINE, PUBLIC HEALTH AND NURSING
UNIVERSITAS GADJAH MADA – DR. SARDJITO GENERAL HOSPITAL



ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Ref. No. : KE/FK/1486/EC/2019

Title of the Research Protocol : Hubungan Durasi Mengalami Diabetes Melitus Tipe 2 dengan Memori Spasial Menggunakan Uji *Morris Water Maze* pada Tikus Remaja yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan *Streptozotocin*

Document(s) Approved and version : Study Protocol version 02 2019

Principle Investigator : Intan Susmita Rafsanjani

Participating Investigator : dr. Miranti Dewi Pramaningtyas, M.Sc.

Date of Approval : 27 DEC 2019
(Valid for one year beginning from the date of approval)

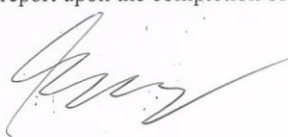
Institution(s)/place(s) of research : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) states that the document above meets the ethical principle in the International and National Guidelines on ethical standards and procedures for researches involving animal.

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) has the right to monitor the research activities at any time.

The investigator(s) is/are obliged to submit:

- Progress report as a continuing review (state its due time)
- Report of any serious events
- Final report upon the completion of the study


Prof. Dr. dr. Sri Sutarni, Sp.S(K).
Panel's chairperson


dr. Yunita Widyastuti, Sp.An., M.Kes., KAP., Ph.D.
Panel's secretary