

## Perbandingan Efek Vitamin E Dan Asam Rosmarinat Terhadap Ekspresi Subunit P65 Nf-Kb Pada Tikus Diabetes

### Comparison Of The Effect Of Vitamin E And Rosmarinic Acid On Expression Of P65 Nf-Kb Subunit In Diabetes Rat

WahyuPrima<sup>1</sup>, Nur Samsu<sup>2</sup>, HusnulKhotimah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

<sup>2</sup>Departemen Ilmu Penyakit Dalam , Fakultas Kedokteran UB-RSSA Malang

<sup>3</sup>Departemen Farmakologi , Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

Email korespondensi: [wahyuprimae@gmail.com](mailto:wahyuprimae@gmail.com)

#### Abstrak

Salah satu penyebab dari Nefropati diabetik (ND) yang paling berperan adalah peningkatan radikal bebas akibat tingginya kadar glukosa sehingga menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif akan mengaktifasi Angiotensin II dan factor transkripsi *Nuclear Factor kappa B* (NFKb). Pencegahan dan perlambatan progresifitas ND adalah dengan menggunakan antioksidan. Salah satu contoh antioksidan adalah Vitamin E dan Asam Rosmarinat (AR). Vitamin E sebagai antioksidan konvensional sedangkan AR sebagai antioksidan poten yang juga memiliki efek antiinflamasi. Penelitian eksperimental laboratorik ini bertujuan membandingkan efek Vitamin E dan AR terhadap ekspresi NFKb p-65 pada glomelurus tikus diabetes tipe 2. Metode yang digunakan adalah *randomized posttest only controlled group design* dengan total tikus 15 ekor. Ekspresi NFKb p-65 kontrol positif meningkat signifikan dibandingkan kontrol negatif ( $p < 0,001$ ), Vitamin E dan AR mampu menurunkan ekspresi NFKb dibanding dengan kontrol positif ( $p = 0,022$  dan  $p = 0,001$ ). Ekspresi NFKb pada kelompok Vitamin E dan Asam Rosmarinat tidak terdapat perbedaan signifikan namun AR menurunkan lebih baik dibandingkan Vitamin E. Dapat disimpulkan bahwa AR memberikan efek lebih baik pada penurunan ekspresi NFKb p-65 pada glomelurus tikus diabetes tipe 2 dibandingkan Vitamin E.

Kata kunci: Nefropatidiabetik, *Nuclear Factor kappa B* (NF-Kb), AsamRosmarinat, Vitamin E

#### Abstract

One of the causes of diabetic nephropathy (ND) that have important role is the increase of free radicals due to high levels of glucose which causes oxidative stress. Oxidative stress activates Angiotensin II and the transcription factor of Nuclear Factor kappa B (NFKb). Prevention and slowing down of ND progression is by using antioxidants. The example of antioxidants are Vitamin E and Rosmarinic Acid (RA). Vitamin E is a conventional antioxidant while RA is a potent antioxidant that also has anti-inflammatory effects. This laboratory experimental study aimed to compare the effects of Vitamin E and RA on the expression of NFKb p-65 in glomelurus of type 2 diabetes rats. NFKb expression of p-65 of positive control increased significantly compared to negative controls ( $p < 0.001$ ), Vitamin E and RA were able to reduce NFKb expression compared to positive controls ( $p = 0.022$  and  $p = 0.001$ ). respectively there was no significant difference between NFKb expression in the Vitamin E group and Rosmarinic acid but RA decreased better than Vitamin E. It can be concluded that AR had a better effect compared to Vitamin E on the decrease in NFKb p-65 expression in glomelurus type 2 diabetes rats.

Keyword: Diabetic nephropathy, *Nuclear Factor kappa B* (NF-Kb), Rosmarinic Acid, Vitamin E

## Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyebab utama kematian di dunia. DM tipe 2 merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Di Indonesia sekitar 75% penderita DM tipe 2 belum terdiagnosis. Hal ini akan sulit mendapatkan pengobatan dan perawatan yang adekuat sehingga dapat menyebabkan terjadinya komplikasi. Komplikasi DM tipe 2 meliputi gangguan makrovaskuler diantaranya penyakit jantung koroner (PJK), stroke dan mikrovaskuler seperti nefropati, retinopati, neuropati, dan ulkus di kaki diabetik. (Schellenberg et al, 2013; PERKENI. 2011; Fatimah, RN. 2015)

Komplikasi mikrovaskuler yang utama bagi penderita DM tipe 2 adalah nefropati diabetik (ND). Nefropati diabetik terjadi karena kerusakan glomerulus sehingga sejumlah protein darah diekskresikan ke dalam urin secara abnormal yang menyebabkan penyakit ginjal tahap akhir dan penyakit ginjal kronik yang merupakan sindroma nefrotik. Menurut data di Rumah Sakit Ciptomangunkusumo pada tahun 2011, komplikasi yang paling sering ditemukan pada kasus DM tipe 2 adalah neuropati, lalu diikuti dengan retinopati dan nefropati pada urutan ketiga. (Tavafi M, 2013; Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2014).

Penelitian yang dilakukan di Inggris membuktikan bahwa orang Asia memiliki angka penderita ND lebih tinggi dibandingkan orang Barat. Hal ini disebabkan penderita DM di Asia terjadi pada umur yang relatif lebih muda sehingga kemungkinan terjadinya ND lebih besar. Suatu studi ekonomi kesehatan yang dilakukan Goeree pada tahun 2007 di Kanada menunjukkan biaya yang dikeluarkan untuk membiayai perawatan ND mencapai \$4117, lebih besar dibandingkan dengan stroke yang hanya berkisar \$3965. Prevalensi ND dilaporkan sebesar 29,4% di Thailand, 20,8% di Filipina, 13,1% di Hongkong, dan 2,0%-39,8% di Indonesia. (Adam JMF, 2005)

Nefropati diabetik disebabkan oleh radikal bebas yang diproduksi secara berlebihan. Selain itu kondisi hiperglikemia kronik akan meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam sel dan akan bersifat toksik sehingga menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang menghasilkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). *Reactive Oxygen Spesies* yang berlebihan akan mengaktifasi Angiotensin II dan factor transkripsi

*Nuclear Factor kappa B* (NF- $\kappa$ B). Pada sindroma nefrotik juga sering ditemukan NF- $\kappa$ B subunit p65. Selain itu penelitian yang dilakukan Yi (2014), subunit p65 NF- $\kappa$ B dilaporkan meningkat pada pasien ND. (Forbes et al, 2008; Desminarti et al, 2012; Corebima et al, 2009)

Salah satu penatalaksanaan ND adalah penggunaan antioksidan dalam menurunkan produksi ROS. Salah satu antioksidan yang dapat menurunkan produksi ROS antara lain adalah Vitamin E dan Asam Rosmarinat. Vitamin E merupakan antioksidan yang berperan penting dalam menonaktifkan radikal bebas yang menyerang jaringan. Menurut Schlenker 2011 dalam Mutiarani 2017, Vitamin E berperan sangat baik karena teroksidasi dengan lambat sehingga menonaktifkan radikal bebas. Penelitian yang dilakukan Suarsana 2011 pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia yang diberikan Vitamin E menunjukkan bahwa vitamin E dapat memutuskan rantai radikal bebas sehingga mampu menurunkan radikal bebas di tubuh tikus. Asam Rosmarinat yang cara kerjanya sama dengan Vitamin E namun memiliki kapasitas antioksidan yang lebih kuat baik tunggal maupun kombinasi, waktu paruh yang lama, mempunyai permeabilitas yang tinggi terhadap mitokondria yang menyebabkan aktivitas enzim antioksidan tubuh meningkat dan memiliki efek sebagai anti-inflamasi. Namun perbandingan efek antioksidan antara vitamin E dengan Asam Rosmarinat terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar model diabetes mellitus tipe 2 belum pernah diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pemberian asam rosmarinat mampu menurunkan ekspresi subunit p65 NF- $\kappa$ B lebih baik daripada pemberian vitamin E pada tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar model diabetes mellitus tipe 2. (Bender, 2003; Mutiarani, 2017; Suarsana et al, 2010)

## Bahan dan Metode

### Desain Penelitian

Design penelitian adalah desain *true experimental laboratory* dan metode *randomized posttest only controlled group design* dengan menggunakan tikus dengan model diabetes mellitus tipe 2 sebanyak 15 ekor. Sampel dibagi ke dalam 4 kelompok yaitu kelompok 1. Kontrol negatif (tikus normal, tidak didiabeteskan). Kelompok 2. kontrol positif (tikus diabetes tanpa mendapatkan asam rosmarinat atau vitamin E). Kelompok 3. Tikus diabetes mendapatkan perlakuan Vitamin E dan kelompok 4. Tikus

diabetes yang mendapatkan perlakuan Asam Rosmarinat.

### **Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Streptozotocin (STZ) merk BioWorld, Vit E dalam bentuk D- $\alpha$ -Tocopherol dengan dosis 400mg/kgBB/hari. Dosis asam rosmarinat adalah asam rosmarinat dari ChemCruz dengan dosis 75mg/kgBB/hari. Aquades, Formaldehid 10%, larutan Xytol, larutan paraffin, dan antibody NF- $\kappa$ B p65 (A-12) sc-514451 Santa Cruz Biotechnology. (Maslachah et al, 2008; Tavafi et al, 2011)

### **Persiapan Hewan Coba**

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*), dan seleksi tikus (jenis kelamin jantan, umur 7-9 minggu, berat badan 150-170 gram, belum mengalami perlakuan apapun atau belum mendapat asupan bahan kimia apapun, dan dalam keadaan sehat dengan ditandai bergerak aktif serta bulu tidak rontok). Tikus dikandangkan individual, mendapatkan pakan dengan komposisi kalori 60% lemak, dan akses minum bebas. Tikus diadaptasikan di Laboratorium Farmakologi FKUB selama tujuh hari sebelum eksperimen.

### **Pemberian Vitamin E**

Vitamin E yang telah diencerkan dalam olive oil dengan dosis 400mg/kgBB yang telah dihitung sesuai dengan berat badan masing-masing tikus diberikan dengan dosis rata-rata 92mg/mL secara oral dengan sonde selama 7 minggu, baru setelah itu dilakukan euthanasia dan pengorbanan. (Maslachah et al, 2008)

### **Pemberian Asam Rosmarinat**

Asam rosmarinat yang telah diencerkan dalam air dengan dosis 75mg/kgBB yang telah dihitung sesuai dengan berat badan masing-masing tikus diberikan dengan dosis rata-rata 21,5mg/mL secara oral dengan sonde selama 7 minggu, baru setelah itu dilakukan euthanasia dan pengorbanan. (Tavafi et al, 2011)

### **Pengamatan Imunohistokimia Ginjal Mencit**

Slide diamati dengan mikroskop perbesaran 400x sebanyak 10 glomelurus. Setelah itu dihitung rata-rata dari total yang diamati dibagi 10 glomerulus.

### **Analisis Data**

Seluruh teknis pengolahan data hasil penelitian dianalisis decara komputerisasi dengan menggunakan software *Statistical Product and Service Solution*, IBM SPSS Statistics 20 dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ( $p=0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Langkah-langkah uji hipotesis komparatif adalah sebagai berikut: uji normalitas data, uji homogenitas varian, uji *One-way ANOVA*, dan *Post hoc test (uji Least Significant Difference)*.

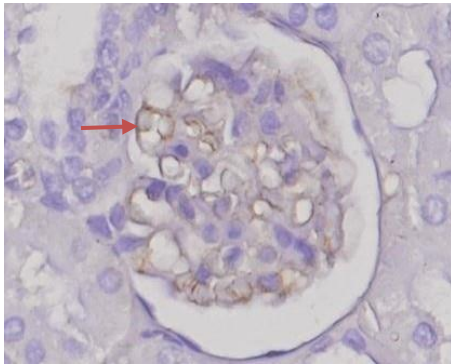
### **Hasil**

#### **Perhitungan NFKb p-65 Glomelurus Ginjal**

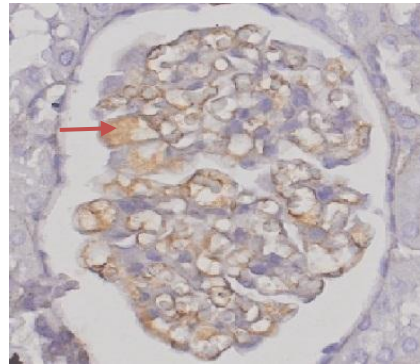
Setelah dilakukan pemberian diet tinggi lemak selama 3 minggu, dilanjutkan dengan pemberian Streptozotocin (STZ) untuk kelompok kontrol positif (KP) dan kelompok perlakuan (KP1 dan KP2). Pada hari ke-3 dilakukan pengecekan gula darah puasa (GDP) dan jika sudah melebihi 280 mg/dL maka tikus dinyatakan DM dengan kondisi komplikasi vaskuler (nefropati). Pada tikus kelompok perlakuan, dilanjutkan pemberian Asam Rosmarinat dan Vitamin E selama 7 minggu. Pada hari terakhir di minggu ke-7 dilakukan terminasi keseluruhan sampel untuk diambil organ ginjal. Organ ginjal kemudian dilakukan fiksasi dengan *netral buffer formalin* 10% yang selanjutnya dibuat preparat histologi dengan pengecatan imunohistokimia. Sebelum dilakukan pengamatan, slide terlebih dahulu diinkubasi dengan monoklonal anti NFKb p-65 kemudian diamati melalui mikroskop cahaya. Hasil pemeriksaan yang diamati berupa ekspresi warna coklat pada preparat yang menunjukkan aktivasi NFKb p-65 dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pemeriksaan selanjutnya dilakukan perhitungan ekspresi NFKb p-65 pada glomelurus ginjal tikus. Data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS dan didapatkan hasil uji normalitas data  $p=0,556$ , uji homogenitas varian  $p=0,115$ , uji *One-way ANOVA*  $p=0,000$ . Untuk uji *Post hoc*, antara kelompok kontrol negatif dengan positif didapat  $p=0,000$ , kelompok kontrol positif dengan perlakuan Vitamin E didapat  $p=0,022$ , kelompok kontrol positif dengan perlakuan AR didapat  $p=0,001$ , dan kelompok Vitamin E dengan AR didapat  $p=0,061$ . Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 1. dan Gambar 2. dibawah ini.

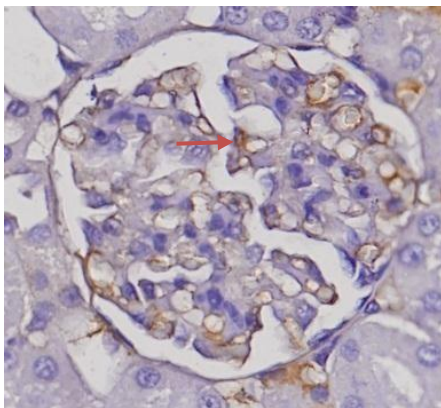
a. Kontrol Negatif (KN)



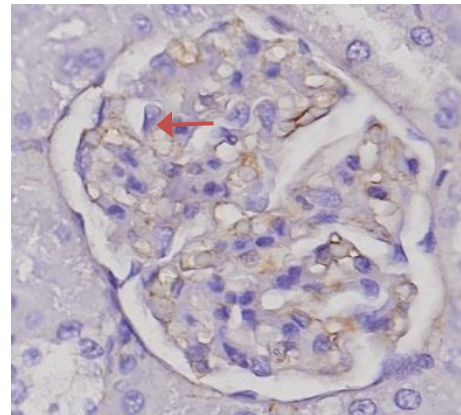
b. Kontrol Positif (KP)



c. Kelompok Perlakuan Vit E



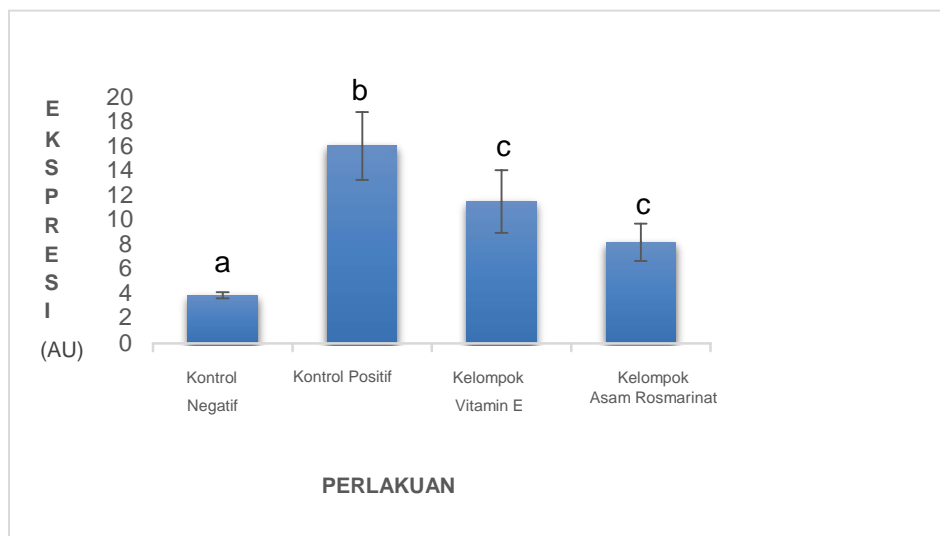
d. Kelompok Perlakuan AR



Gambar 1. Gambaran Imunohistokimia Glomerulus Ginjal (400x)

Tabel 1. Rerata Ekspresi NFKb p-65 Glomerulus Ginjal Tikus

Kelompok Perlakuan	Rerata Ekspresi NFKb p-65 Glomerulus Ginjal $\pm$ SD
Kontrol Negatif	3,933 $\pm$ 0,251 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	16,15 $\pm$ 2,76 <sup>b</sup>
Kelompok Vitamin E	11,6 $\pm$ 2,57 <sup>c</sup>
Kelompok AR	8,25 $\pm$ 1,52 <sup>c</sup>



Gambar 2. Grafik Rerata Ekspresi NFKb p-65 Glomerulus Ginjal Tikus

Tanda panah menunjukkan NFKb p-65 di glomerulus. Pengamatan dilakukan pada glomerulus dengan aplikasi master scan dot slide dengan perbesaran 400x, pengecatan Imunohistokimia (IHK). (a) Kelompok Kontrol Negatif (KN), (b) Kelompok Kontrol Positif (KP), (c) Kelompok Perlakuan Vit E (d) Kelompok Perlakuan AR.

Berdasarkan grafik 2 dapat disimpulkan bahwa kelompok dengan jumlah ekspresi NFKb p-65 terendah didapatkan pada kelompok kontrol negatif. Jumlah ekspresi NFKb p-65 tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol positif. Pemberian Vitamin E dan Asam Rosmarinat menurunkan ekspresi NFKb p-65 dengan hasil Kelompok Asam Rosmarinat lebih rendah dari pada Kelompok Vitamin E

Pada uji *Shapiro-Wilk* yang diperoleh bahwa data ekspresi NFKb p-65  $p = 0,556$ , sehingga dapat dikatakan data terdistribusi normal. Hasil uji *Levene* didapatkan nilai  $p = 0,115$  sehingga dapat dikatakan data homogen. Dengan demikian maka analisis data dapat dilakukan dengan menggunakan uji *One-way ANOVA*. Berdasarkan hasil uji *One-way ANOVA*, data ekspresi NFKb p-65 diperoleh nilai Sig atau  $p$ -value sebesar  $p = 0,00$ , sehingga didapatkan kesimpulan ada berbeda bermakna dari ekspresi NFKb p-65 glomerulus ginjal antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Berdasarkan output uji Post Hoc diperoleh data yang dapat disimpulkan bahwa: antara kelompok kontrol negatif dan positif terdapat perbedaan signifikan ( $p=0,000$ ), kelompok kontrol positif dengan perlakuan Vitamin E terdapat perbedaan signifikan ( $p=0,022$ ), kelompok kontrol

positif dengan perlakuan AR terdapat perbedaan signifikan ( $p=0,001$ ), dan kelompok perlakuan Vitamin E dengan perlakuan AR tidak terdapat perbedaan signifikan ( $p=0,061$ ).

#### Pembahasan

Berdasarkan Tabel 1. dan Gambar 2. menunjukkan bahwa rata-rata ekspresi NFKb p-65 tikus wistar pada glomerulus tikus wistar kelompok normal (KN) adalah  $3,933 \pm 0,251$ . Adapun tikus kelompok DM tanpa perlakuan (KP) mengalami peningkatan secara signifikan dengan rata-rata ekspresi NFKb p-65 sebesar  $16,15 \pm 2,76$  sehingga kadar kelompok ini menjadi meningkat signifikan dibandingkan kelompok normal ( $p = 0,000$ ). Hasil ini sesuai dengan penelitian Iwamoto (2005) membuktikan bahwa terjadi peningkatan ekspresi NFKb p-65 pada ginjal tikus DM tipe 2. Hal ini disebabkan oleh keadaan hiperglikemi mampu meningkatkan kadar radikal bebas di dalam tubuh yang nantinya mampu menyebabkan terjadinya *stress oksidative*. Hiperglikemi menginduksi jalur nonenzimatis, jalur enzimatis dan jalur mitokondria. Pada jalur enzimatis stress oksidative berasal dari enzimatis glukosa. Glukosa mengalami autoksidasi dan menghasilkan  $-OH$ . Selain itu, glukosa juga bereaksi dengan protein nonenzimatis yang menghasilkan produk Amadorin atau prekursor AGEs (*advance glytation end-products*) yang selanjutnya diikuti pembentukan AGEs. Pada jalur sorbitol hiperglikemi merangsang pelepasan superoksida di tingkat

mitokondria. Peningkatan ketiga jalur akibat hiperglikemi tersebut menyebabkan umpan balik positif sintesis ROS ( $-O_2, H_2O_2, -OH$ ). Sehingga membuat kadar ROS semakin tinggi, hal ini menyebabkan terjadinya *stress oxidative*. *Stress oxidative* ini memicu terjadinya kerusakan DNA, kerusakan membran sel yang menjadi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan mengaktivasi dari NFKb. Keadaan *stress oxidative* akibat hiperglikemi tersebut, tidak diimbangi dengan peningkatan anti oksidan yang melindungi tubuh dari radikal bebas sehingga dalam diabetes mellitus terjadi peningkatan aktivasi NFKb p-65 yang signifikan. (Iwamoto et al, 2005; Hendromartono, 2001)

Pengukuran ekspresi NFKb p-65 tikus wistar menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan Vitamin E dengan dosis 400 mg/Kg BB per hari menunjukkan penurunan signifikan aktivasi NFKb p-65 glomelurus menjadi 11,6 dibandingkan dengan kelompok KP. Dosis ini mengacu pada penelitian Setiawan *et al.* (2014) disebutkan vitamin E dengan dosis 400 mg/kgBB mampu menurunkan level kreatinin sehingga dapat menjadi salah satu alternatif terapi fibrosis ginjal. Hasil dari penelitian ini sesuai dengan penelitian Palsamy (2011) yang juga mengalami penurunan ekspresi NFKb p-65 pada pemberian Vitamin E terhadap ginjal tikus DM tipe 2. Hal ini disebabkan karena Vitamin E bertindak sebagai antioksidan dengan memutus rantai oksidan sehingga terbentuknya molekul peroksil radikal, lalu dapat dihambat sebagai *peroxyl scavenger* dan ikatan molekul ROS dengan gugus tocopheroxyl. Dengan demikian kerusakansel membran peroksidase lipid dapat dihambat yang akan menurunkan aktivasi dari NFKb p-65. (Maslachah et al, 2008; Palsamy et al, 2011)

Hasil penelitian pada kelompok yang dilakukan pemberian Asam Rosmarinat dengan dosis 75mg/Kg BB per hari menunjukkan terjadinya penurunan signifikan aktivasi NFKb p-65 glomelurus menjadi 8,25 dibandingkan dengan kelompok KP. Dosis yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Tavafi tahun 2016 yang menggunakan Asam Rosmarinat dengan dosis 50mg/kgBB, 100mg/kgBB, dan 200mg/kgBB mampu memberikan perbaikan pada iskemik renal. Peneliti memutuskan untuk menggunakan dosis 75mg/kgBB per hari karena letaknya di range penelitian sebelumnya. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Tavafi (2011) yang membuktikan penurunan NFKb p-65 pada tikus Diabetes yang diberikan AR. Hal ini kemungkinan disebabkan

karena Asam Rosmarinat bertindak sebagai antioksidan dengan menghambat pelepasan superoksida di mitokondria. Asam Rosmarinat juga bertindak sebagai *peroxynitrite scavenger* ( $ONOO^-$ ) yang merupakan salah satu bentuk ROS sehingga *Stress oxidative* akan berkurang dan menyebabkan kerusakan peroksidase lipid dapat dihambat yang akan menurunkan aktivasi dari NFKb p-65. (Tavafi et al, 2011)

Pemberian Vitamin E dan Asam Rosmarinat (AR) mampu menurunkan aktivasi NFKb p-65 karena keduanya memiliki aktifasi sebagai antioksidan yang bekerja menghambat peroksidase lipid dan bertindak sebagai *peroxyl radical scavenger*. Pada hasil penelitian kelompok yang dilakukan pemberian Asam Rosmarinat (AR) 75mg/kgBB per hari menurunkan aktivasi NFKb p-65 lebih baik namun tidak signifikan dibandingkan kelompok perlakuan yang diberikan Vitamin E 400 mg/KgBB. Asam Rosmarinat di dalam penelitian yang dilakukan oleh Rocha *et al* (2015) mengatakan bahwa AR dapat menghambat efek inflamasi yang terjadi dikarenakan memiliki sifat antioksidan yang cukup tinggi. Asam Rosmarinat ternyata juga dapat menghambat ekspresi NFKb secara langsung sehingga mencegah sitokin pro inflamasi sistemik agar tidak terjadinya edema. Edema ini terjadi dikarenakan perubahan pada permeabilitas vaskular dan akumulasi dari polimonomuclear leukosit dan netrofil. (Maslachah et al, 2008; Tavafi et al, 2011; Rocha et al, 2015)

Manfaat dari AR yang memiliki sifat sebagai anti oksidan dan juga sebagai anti inflamasi ini yang menyebabkan AR memiliki potensi menurunkan aktivasi NFKb p-65 lebih baik (48,9 %) namun tidak signifikan dibandingkan Vitamin E (28,17%). Sehingga dapat disimpulkan bahwa AR memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan Vitamin E dan dapat menjadi salah satu alternatif antioksidan yang poten baik segi preventif dan progresivitas pasien diabetes mellitus menjadi nefropati diabetik.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hipotesis penelitian terbukti, yaitu: adanya perbedaan yang bermakna dari pemberian Vitamin E 400 mg/KgBB per hari terhadap ekspresi NFKb p-65 glomelurus ginjal tikus Diabetes Tipe 2. Adanya perbedaan yang bermakna dari pemberian Asam Rosmarinat 75mg/KgBB per hari terhadap ekspresi

NFKb p-65 glomelurus ginjal tikus Diabetes Tipe 2. Asam Rosmarinat lebih baik dalam menurunkan aktivasi NFKb p-65 pada glomelurus ginjal tikus Diabetes Tipe 2 dibandingkan Vitamin E, namun tidak berbeda bermakna.

#### Daftar Pustaka

- Adam, JMF. 2005. *Komplikasi Kronik Diabetik Masalah Utama Penderita Diabetes dan Upaya Pencegahan*. Tersedia dari URL: <http://www.akademik.unsri.ac.id/download/journal/files/medhas/9-John%20Adam.pdf>. Diakses pada tanggal 3 September 2017.
- Bender, DA. 2003. *Nutritional Biochemistry of The Vitamins*, Second Edition. New York. Cambridge University Press: 352- 354
- Corebima, BIRV., Subandiyah, K., and Fitri, LE. 2009. Expression and Activation of NF-kB p65 Subunit of Mononuclear Cell at Steroid Resistance Nephrotic Syndrom in Childhood Patient. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 25(3): 133-137.
- Desminarti, Susi., Rimbawan., Faisal, A., dan Adi, W. 2012. Efek Bubuk Tempe Instan Terhadap Kadar Malonaldehid (MDA) Serum Tikus Hiperlikemik. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol. 6(2): 72- 74
- Fatimah, RN. 2015. *Diabetes Mellitus Tipe 2. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, 4, pp.93-101.
- Forbes, J.M., Coughan, M.T., and Cooper, M.E. 2008. Oxydative stress a a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*, 57; 1446-1454.
- Hendromartono. 2001. Peran radikal bebas dan infeksi terhadap komplikasi vaskuler diabetes mellitus. Dalam: *Indonesian Journal of Tropical Medicine (Majalah Kedokteran Tropis Indonesia)*, 1(12): 41.
- Iwamoto, Masateru., Mizuiri, S., Arita, M., and Hemmi, H. 2005. Nuclear Factor-kB Activation in Diabetic Rat Kidney:Evidence for Involvement of P- Selectin in Diabetic Nephropathy. *Tohoku J Exp,Med*: 163-171.
- Maslachah, L., Sugihartuti, R., dan Kurniasanti, R. 2008. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O<sub>2</sub>) oleh Antioksidan Vitamin E ( $\alpha$ - tocopherol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Renjatan Listrik. *Media Kedokteran Hewan* Vol 24: 21-26.
- Mutiarani, AL. 2017. Pengaruh Pemberian Vitamin C, Vitamin E, dan Kromium (CR3+) Terhadap Kadar Insulin Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan. *Medical and Health Science Journal*, Vol 1:14- 21.
- Palsamy, P., and Subramanian, S. 2011. *Resveratrol Protect Diabetic Kidney by Attenuating Hyperglycemia- mediated Oxidative stress and Renal Inflammatory Cytokines via Nrf2-Keap1 Signaling*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1812: 719-731.
- PERKENI. 2011. *Konsensus pengelolaan diabetes mellitus tipe 2 di Indonesia 2011*. Semarang: PB PERKENI.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2014. *Situasi dan Analisis Diabetes*. Tersedia dari URL: <http://www.depkes.go.id> . Diakses pada tanggal 3 September 2017.
- Rocha J., Figueira,M.E., Barateiro, A., Fernandes, A., Brites, D., and Bronze, R., et al. 2015. *Anti-inflammatory Effect of Rosmarinic Acid and an Extract of Rosmarinus officinalis in Rat Models of Local and Systemic Inflammation*. *Basic & Clinical Pharmacology& Toxicology* Vol 116: 398-413.
- Schellenberg, ES ., Dryden, DM., Vandermeer, B., Ha, C., and Korownyk, C. *Lifestyle Interventions for Patients With and at Risk for Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta- analysis*. *Ann Intern Med*. 2013 ;159: 543-551.
- Suarsana, I.N., Iwan, H.U., Agung, I.G., dan Suartini,A. 2010. Sintesis Glikogen Hati dan Otot pada Tikus Diabetes yang Diberi Ekstrak Tempe. *Jurnal Veteriner* Vol 11(3): 190-195.
- Tavafi, M. 2013. Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of invesigations. *J Renal Inj Prev*;2:59-62.
- Tavafi, M., Ahmadvand, H., Khalatbari, A., and Tamjidipoor, A. 2011. *Rosmarinic Acid Ameliorates Diabetic Nephropathy in Uninephrectomized Diabetic Rats*. *Iranian Journal of Basic Medical Science* Vol 14 No 3: 275-283.