

# HUBUNGAN ANTARA BERAT BADAN DENGAN KADAR GULA DARAH ACAK PADA TIKUS DIABETES MELLITUS

*by Yohanes Andy Rias*

---

**Submission date:** 11-Nov-2021 09:52AM (UTC+0800)

**Submission ID:** 1699340970

**File name:** 149-271-1-SM\_1.pdf (300.37K)

**Word count:** 2454

**Character count:** 14741

10

## HUBUNGAN ANTARA BERAT BADAN DENGAN KADAR GULA DARAH ACAK PADA TIKUS DIABETES MELLITUS

### THE RELATIONSHIP BETWEEN BODY WEIGHT AND GLUCOSE IN DIABETIC RATS

**Yohanes Andy Rias, Ekawati Sutikno**

12

#### Info Artikel:

##### Sejarah Artikel

Diterima: 31 Mei 2017

Disetujui: 1 Juni 2017

Dipublikasikan: 16 Juni 2017

##### Kata Kunci:

Berat badan, kadar gula, diabetes mellitus

##### Keywords:

Body weight, glucose, diabetes mellitus

#### Abstrak

**Latar belakang:** Penyandang diabetes mellitus akan mengalami defisiensi insulin, sehingga terganggunya metabolisme protein dan lemak yang menyebabkan penurunan berat badan, sehingga mengakibatkan berkurangnya jumlah simpanan kalori. **Tujuan:** Mengetahui hubungan antara berat badan dengan kadar glukosa darah pada tikus yang mengalami diabetes mellitus.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan desain *quasy eksperimental*. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah sebanyak 20 tikus *Rattus norvegicus* Barkenhout, 1769. Variabel terikat berupa berat badan sedangkan variabel bebas berupa gula darah. Analisis yang dilakukan berupa uji perbandingan kemudian dilakukan *regresi coleration*. **Hasil:** Berdasarkan uji korelasi antara berat badan dan gula darah didapatkan nilai kovisien korelasi ( $R^2$ ) adalah 0,774. **Simpulan dan saran:** Terdapat hubungan antara berat badan dan glukosa pada tikus yang mengalami diabetes mellitus. Perlu adanya penentuan tingkat imunitas dan stress pada hewan coba.

#### Abstract

**Background:** Diabetes mellitus experience insulin deficiency, so the disturbed of protein and fat metabolism that lead to weight loss, resulting in reduced amount of calory deposits. **Objective:** To determine the relationship between body weight and glucose level in Rat with diabetes mellitus. **Methods:** Design study was experimental quasy. Total samples was 20 Rat *Rattus norvegicus* Barkenhout, 1769. Dependent variables of body weight while the independent variable is blood sugar. Statistical analysis using comparison test and correlation regression. **Results:** Based on correlation test between body weight and blood sugar obtained correlation value ( $R^2$ ) is 0.774. **Conclusions and suggestions:** There is a relationship between body weight and glucose in Rat with diabetes mellitus. It is necessary to determine the level of immunity and stress in Rat model.

#### Korespondensi :

<sup>1</sup>Staf <sup>22</sup>gajar S1 Keperawatan IIK Bhakti Wiyata Kediri. E-mail: yohanes.andi@iik.ac.id

<sup>2</sup>Staf Pengajar D4 Analis Kesehatan IIK Bhakti Wiyata Kediri. E-mail: ekawati\_sutikno@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan kenaikan kadar glukosa darah sebagai akibat ketidakcukupan fungsi insulin<sup>1</sup> dan berakitan erat dengan angka mortalitas yang tinggi<sup>2</sup>. Prevalensi global, diperkirakan terdapat 422 juta jiwa penyandang DM pada tahun 2014<sup>1</sup>. Prevalensi penyandang DM di Indonesia pada tahun 2007 sebanyak 1,1% dan mengalami peningkatan pada tahun 2013 dengan prevalensi 2,1%<sup>3</sup>. Angka insiden diabetes mellitus tipe 2 berada pada angka tertinggi di negara ekonomi berkembang, khususnya di Indonesia<sup>4</sup>.

Penyandang DM akan mengalami defisiensi insulin, sehingga terganggunya metabolisme protein dan lemak yang menyebabkan penurunan berat badan. Penurunan berat badan ini akan mengakibatkan berkurangnya jumlah simpanan kalori<sup>5</sup>. Penyandang DM dalam keadaan stres fisiologis dan emosional dapat terjadi hiperglikemia, sehingga meningkatkan produksi glukosa oleh hati dan mengganggu penggunaan glukosa dalam jaringan otot serta lemak dengan cara melawan kerja insulin<sup>6</sup>. Keadaan stres menyebabkan peningkatan sekresi hormon epineprin dan kortisol yang meningkatkan kadar glukosa darah<sup>7</sup>.

Menurut American Diabetic Asociation (ADA)<sup>16</sup> penyakit DM dapat ditandai dengan banyak minum, banyak makan, sering buang air kecil dan terjadi penurunan berat badan<sup>8</sup>. Penurunan berat badan dapat terjadi penurunan massa otot yang berada di tubuh. Apabila terjadi penurunan massa otot di pada nasofaring dan orofaring dapat terjadi *Obstructive Sleep Apnea* (OSA)<sup>9</sup> yang pada akhirnya biasa mempengaruhi berat badan. Adapun tujuan penelitian ini adalah mengetahui hubungan

antara berat badan dengan kadar glukosa darah pada tikus yang mengalami DM.

## METODE PENELITIAN

Terdapat 20 Tikus *Rattus norvegicus* Barkenhout, 1769 berjenis kelamin jantan dengan umur 3-4 bulan yang memiliki berat badan 150-200 gram<sup>10</sup> dipilih secara *simple random sampling*. Kemudian dibagi untuk tiap kelompok 10 ekor dengan diberi 2 cadangan tikus.

Proses pembuatan hiperglikemi dilakukan induksi *streptozotocin* (STZ) pada tikus dilakukan secara intraperitoneal (i.p) melalui rongga peritoneum abdomen. Induksi STZ di 45 mg/kg dengan berat badan 150-200 gram serta dimonitoring setelah 72 jam untuk dilakukan tes glukosa darah acak (>200 mg/dl)<sup>11</sup>.

Kadar glukosa darah ditentukan dengan metode Glucose Oxidase-Phenol 4-Aminoantipirin (GOD-PAP). Prinsip metode ini adalah glukosa ditentukan setelah oksidasi enzimatis dengan adanya glukosa oksidase, hydrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan adanya peroksidase dengan phenol serta 4-aminophenazone menjadi warna quinoneimine yang berwarna merah violet. Hal ini terjadi setelah serum dicampur dengan reagen glucose liquicolor dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20° C – 25° C atau selama 5 menit pada suhu 37° C. Kemudian mengukur absorbansi standar dan absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer<sup>12</sup>. Sedangkan berat badan menggunakan timbangan tikus (hewan).

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini penelitian *quasy experimental*. Data di analisis uji perbandingan kemudian dilakukan *regresi colleration* menggunakan uji dengan tingkat kepercayaan 95%

## HASIL PENELITIAN

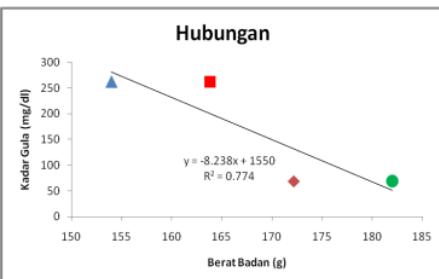
Hasil penelitian hubungan berat badan dengan glukosa darah dapat dilihat dari Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Rerata Berat Badan (g) dan Kadar Glukosa (mg/dl) pada tikus

Perlakuan	N	W	Rerata ± Std. Deviasi	
			Berat Badan	Kadar Gula
Kontrol	5	H0	172,2±3,2	68,9±1,2
	5	H1	182±2,9	69,4±0,9
Perlakuan	5	H0	163,8±3,2	262,7±2,9
	5	H1	154±3,8	263,3±2,7

Ket: N: Ulangan W: Waktu, Kontrol: Tikus normal tanpa diberikan STZ, Perlakuan: Tikus yang diberikan STZ, H0:Hari pertama sebelum tikus diberikan STZ, H1:Hari terakhir setelah tikus diberikan STZ

Dari hasil penelitian yang disajikan dalam Tabel 1 diatas, terlihat bahwa berat badan tikus perlakuan setelah diberikan STZ menurun dari hari pertama adalah  $163,8 \pm 3,2$  menjadi  $154 \pm 3,8$  pada hari terakhir sedangkan berat badan tikus kontrol meningkat dari hari pertama adalah  $172,2 \pm 3,2$  menjadi  $182 \pm 2,9$  pada hari terakhir. Sedangkan gula darah pada tikus kontrol dan tikus perlakuan mengalami peningkatan.



Gambar 1. Korelasi Berat badan (g) dengan Gula Darah (mg/dl); ◆: Tikus normal tanpa diberikan STZ pada hari pertama, ●: Tikus normal tanpa diberikan STZ pada hari terakhir, ■: Tikus perlakuan yang diberikan STZ pada hari pertama, ▲: Tikus perlakuan yang diberikan STZ pada hari terakhir.

Setelah dilakukan uji korelasi antara berat badan dan gula darah didapatkan nilai kovisien korelasi ( $R^2$ ) adalah 0,774. Nilai kovisien korelasi antara 0,61-0,80 tergolong korelasi cukup<sup>13</sup>. Sehingga dapat dikatakan bahwa berat badan dan gula darah memiliki hubungan.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis diatas, terdapat hubungan antara berat badan dan kadar gula darah pada hewan percobaan. Hal tersebut sesuai dengan beberapa penelitian yang menyatakan bahwa terdapat hubungan berat badan lebih dengan peningkatan kadar gula darah puasa dengan menggunakan uji *chi square*  $p>0,05$ <sup>14,15</sup>. Hal ini dikarenakan insulin diketahui sebagai reseptor penyerapan glukosa melalui membran khusus dari insulin sensitive yang menghasilkan peningkatan kadar glukosa darah akibat serapan glukosa tertunda, oleh karena itu berat badan berkorelasi dengan kadar glukosa darah<sup>16,17</sup>. Namun hal tersebut tidak selalu berhubungan yang dikarenakan banyak faktor antara lain kadar adrenalin<sup>18</sup>, diet *fasting blood glucose* (FBG) yang tidak terkendali<sup>19</sup>, konsumsi <sup>17</sup>kakan yang berlebihan<sup>20</sup> dan genetik<sup>21</sup>. Penurunan berat badan secara signifikan berhubungan dengan adanya penurunan glukosa darah<sup>22</sup>.

Keadaan penambahan berat badan dapat disebabkan oleh asupan nutrisi berlebihan secara terus menerus, sehingga terjadi simpanan lemak yang berlebihan. Simpanan asam lemak dalam bentuk senyawa kimia berupa triasilgliserol yang terdapat di dalam sel-sel adiposit dapat melindungi tubuh dari efek toksik asam lemak. Asam lemak dalam bentuk bebas dapat bersirkulasi dalam pembuluh darah ke seluruh tubuh dan menimbulkan stres oksidatif yang kita kenal dengan lipotoksisitas. Timbulnya efek

lipotoksisitas yang disebabkan sejumlah asam lemak bebas yang dilepaskan triasilgliserol dalam upaya kompensasi penghancuran simpanan lemak yang berlebihan berpengaruh terhadap jaringan adiposa maupun non-adiposa, serta berperan pada patofisiologi penyakit di berbagai organ seperti hati dan pankreas. Konsekuensi resistensi insulin adalah hiperglikemia, yang dikompensasi dengan sintesis glukosa dari hati (glukoneogenesis), yang justru ikut memperberat hiperglikemia<sup>23</sup>.

Peningkatan TNF- $\alpha$  yang diobservasi pada jaringan lemak pasien obesitas menunjukkan hubungan langsung timbulnya resistensi insulin pada pasien obesitas<sup>24</sup>. Pada penderita diabetes melitus terdapat masalah dalam efek kerja insulin dalam metabolisme gula ke dalam sel tidak sempurna sehingga gula darah tetap tinggi. Keadaan tersebut dapat meracuni dan menyebabkan rasa lemah dan tidak sehat serta menyebabkan komplikasi dan gangguan metabolisme lain. Apabila tubuh tidak mampu mendapatkan energi yang cukup dari gula, tubuh akan mengolah zat-zat lain untuk diubah menjadi energi seperti lemak. Penggunaan atau penghancuran lemak dan protein menyebabkan turunnya berat badan<sup>25</sup>.

Ketidaksediaan glukosa akan mengakibatkan glukoneogenesis secara berlebihan, sehingga sel-sel hati akan meningkatkan produksi glukosa dari substrat lain, salah satunya adalah dengan merombak protein. Asam amino hasil perombakan ditransaminasi sehingga dapat menghasilkan substrat dalam pembentukan glukosa. Peristiwa berlangsung secara terus menerus dikarenakan insulin yang membatasi glukoneogenesis sangat sedikit atau tidak ada sama sekali. Glukosa yang dihasilkan kemudian akan terbuang melalui urine. Akibatnya, terjadi pengurangan jumlah

jaringan otot dan jaringan adiposa secara signifikan. Penyandang DM akan kehilangan berat tubuh yang hebat kendati terdapat peningkatan selera makan (polifagia) dan asupan kalori normal atau meningkat<sup>26</sup>. Terkait penurunan berat badan pada tikus yang mengalami DM juga telah dibuktikan oleh penelitian Indrayani (2016) pada pasien DM di rumah sakit umum kabupaten Ciamis<sup>27</sup>. Berdasarkan data analisis diatas, maka kondisi penyandang diabetes mellitus akan mengalami kondisi yang berbeda dalam kategori berat badan baik peningkatan berat badan maupun penurunan berat badan.

## SIMPULAN

Berat badan pada Tikus *Rattus norvegicus* Barkenhout, 1769 model DM berhubungan dengan kadar glukosa darah.

## SARAN

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menggunakan desain penelitian yang berbeda dengan jumlah sampel yang banyak serta dilakukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui tingkat stress dan kondisi imunologi pada hewan coba untuk mengurangi variable konvonding dalam memperkuat hasil penelitian.

## REFRENSI

1. World Health Organization. 2016. *Global Report On Diabetes*. World Health Organization: WHO Press. ISBN 9789241565257
2. Zaccardi *et al.* 2017. Nonlinear Association Of BMI With All-Cause And Cardiovascular Mortality In Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review And Meta-Analysis Of 414,587 Participants In Prospective Studies. *Diabetologia* (2017) 60:240–248. DOI 10.1007/s00125-016-4162-6

- <sup>1</sup> 3. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). (2013). Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2013. Diakses: 01 Juni 2017, <http://www.depkes.go.id/resources/download/general/Hasil%20Riskeidas%202013.pdf>.
- <sup>4</sup> 4. Astiyandani *et al* (2010). Uji Klinis In Vivo Pengaruh Konsumsi Daluman (*Cycllea barbata*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Tikus Wistar Jantan Dengan Diabetes Mellitus Tipe 2. *IPTEKMA* 2(1), 01-04, ISSN: 2086-1354.
5. Brunner & Suddarth, (2013). *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Edisi 8 volume 2*. Jakarta. EGC.
6. Smeltzer, S.C., Bare, B.G., Hinkle, J.L., & Cheever, K.H. (2010). *Texbook of medical surgical nursing Brunner &Suddarth's.* (11th.ed.). Philadelphia: Lippincott William & Wilkins.
7. Lorentz, M. (2006). Stress and Psychoneuroimmunology Revisited: Using Mind Body Interventions to Reduce Stress. *Alternative Journal of Nursing*, 11, 1-11.
8. American Diabetes Asociation. 2014. Executive Summary: Standards of Medical Care in Diabetes 2014. *Diab Care*. 37 (supl 1): S5-13.
9. Rasmusson, Lars., Bidarian, Armin., Sennerby, Lars., Gareth Scott, Gareth. 2012. Pathophysiology and Treatment Options in Obstructive Sleep Apnoea: a Review of the Literature. *In Jl Clin Med.* 5 473-84.
10. Armour, C. J. & Barnett, S. A. 1950. *The Action Of Dicoumarol On Laboratory And Wild Rats, And Its Effect On Feeding Behaviour*. *J. Hyg., Camb.*, 48, 158-70
11. Pari L, Suman S. 2010. *Efficacy Of Naringin On Hepatic Enzymes Of Carbohydrate Metabolism In Streptozotocin- Nicotinamide Induced Type 2 Diabetic Rats*. *Int. J. Pharm. Biol. Arch.* 1, 280–286.
12. Komala SR, Suhartono T, Rahmi FL, Yusuf I, Ngestiningsih D. 2011. *Petunjuk Praktikum Biokimia II. Pemeriksaan Karbohidrat, Protein Plasma, Dan Lipid*. Semarang: Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran UNDIP.
- <sup>24</sup> 13. Sugiyono. 2014. *Statistika Untuk Penelitian*. Bandung : Alfabeta.
14. Justitia, N.L. 2011. Hubungan Obesitas dengan Peningkatan Kadar Gula Darah pada Guru-Guru SMP 3 Medan. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara Diakses tanggal 2 Juni 2017, dari <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/31305>.
15. Chandra.F, Masdar. H, Rosdiana.D. 2009. Identifikasi Pola Aktivitas dan Status Gizi Pegawai Negri Sipil Pemerintah Daerah Provinsi Riau dengan Kadar Gula darah. Diakses tanggal 1 Juni 2017, dari <http://repository.unri.ac.id/bitstream/123456789/2873/4/isi30001>.
16. Innocent, O., ThankGod, O. O., Sandra, E. O., & Josiah, I. E. 2013. Correlation between body mass index and blood glucose levels among some Nigerian undergraduates. *HOAJ Biology*, 2(1), 4.
17. Abiodun, O. A., Jagun, O. A., Olu-Abiodun, O. O., & Sotunsa, J. O. 2014. Correlation between Body mass index, Waist Hip ratio, blood sugar levels and blood pressure in apparently healthy adult Nigerians. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 13(11), 11-61.
18. Sustrani, L., Alam, S., Hadibroto, L. 2004. *Diabetes*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
19. Stanford, J., Kaiser, M., Ablah, E., Dong, F., Paull-Forney, B., & Early, J. 2012.

- The effect of weight loss on fasting blood sugars and hemoglobin A1c in overweight and obese diabetics and non-diabetics. *Scientific Research*. 2(1)
20. Witasari, U., Rahmawaty, S., & Zulaekah, S. 2009. Hubungan tingkat pengetahuan, asupan karbohidrat, dan serat dengan pengendalian kadar glukosa darah pada penderita diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 10(2), 130-138.
21. Takeuchi, F., Yamamoto, K., Katsuya, T., Nabika, T., Sugiyama, T., Fujioka, A., ... & Ikegami, H. (2011). Association of genetic variants for susceptibility to obesity with type 2 diabetes in Japanese individuals. *Diabetologia*, 54(6), 1350-1359.
22. Kelley, D. E., Kuller, L. H., McKolanis, T. M., Harper, P., Mancino, J., & Kalhan, S. (2004). Effects of moderate weight loss and orlistat on insulin resistance, regional adiposity, and fatty acids in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 27(1), 33-40.
23. Sudoyo, A.W. Setiyohadi B., Alwi I., Simadibrata M., Setiati S., (2009). *Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
24. Hui, W. S., Liu, Z., & Ho, S. C. 2010. Metabolic syndrome and all-cause mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies. *NCBI* 25(6)
25. Albu, J., Heilronn, L., Kelley, D. and Smith, S. 2010. Metabolic changes following a 1-year diet and exercise intervention in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 59, 627-633. doi:10.2337/db09-1239
26. Granner, D.K. 2003. Hormon Pankreas dan Traktus Gastrointestinal. Dalam: Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., & Rodwell, V.W. *Biokimia Harper*. Edisi 25. Jakarta: EGC, 582 – 593.
27. Indriyani F. 2016. Gambaran Berat Badan Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe II Di Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Ciamis Tahun 2016. *Skripsi*. Program Studi S-1 Keperawatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Ciamis.

# HUBUNGAN ANTARA BERAT BADAN DENGAN KADAR GULA DARAH ACAK PADA TIKUS DIABETES MELLITUS

---

ORIGINALITY REPORT



PRIMARY SOURCES

- |   |   |     |
|---|---|-----|
| 1 | jurnal.untan.ac.id<br>Internet Source   | 1 % |
| 2 | akademiai.com<br>Internet Source  | 1 % |
| 3 | digilib2.unisayogya.ac.id<br>Internet Source  | 1 % |
| 4 | media.neliti.com<br>Internet Source   | 1 % |
| 5 | www.ncbi.nlm.nih.gov<br>Internet Source   | 1 % |
| 6 | www.scirp.org<br>Internet Source  | 1 % |
| 7 | Tri Nevita Margareth Panjaitan, Marita Kaniawati, Ilhamjaya Patellongi. "Correlation of Oxidized-LDL, Resistin and Interleukin-1 Beta in Centrally Obese Men", The Indonesian Biomedical Journal, 2013<br>Publication | 1 % |
-

8	<a href="http://www.neliti.com">www.neliti.com</a> Internet Source	1 %
9	Yeni Mila Wariantini Hadi, Zainal Munir, Wiwin Nur Siam. "Efektifitas Penerapan Metode Family-Centered Care terhadap Pasien Anak dengan Stress Hospitalisasi", Citra Delima : Jurnal Ilmiah STIKES Citra Delima Bangka Belitung, 2019 Publication	1 %
10	Submitted to Udayana University Student Paper	1 %
11	<a href="http://berita-terpopuler.blogspot.com">berita-terpopuler.blogspot.com</a> Internet Source	1 %
12	<a href="http://ejournal.poltekkes-pontianak.ac.id">ejournal.poltekkes-pontianak.ac.id</a> Internet Source	1 %
13	<a href="http://ippm.stikesrespati-tsm.ac.id">ippm.stikesrespati-tsm.ac.id</a> Internet Source	1 %
14	<a href="http://apps.who.int">apps.who.int</a> Internet Source	<1 %
15	<a href="http://eprints.undip.ac.id">eprints.undip.ac.id</a> Internet Source	<1 %
16	<a href="http://repository.unair.ac.id">repository.unair.ac.id</a> Internet Source	<1 %
17	<a href="http://smrh.e-journal.id">smrh.e-journal.id</a> Internet Source	<1 %

18	ua.z-pdf.ru Internet Source	<1 %
19	garuda.ristekbrin.go.id Internet Source	<1 %
20	jurnal.ugm.ac.id Internet Source	<1 %
21	repositori.usu.ac.id Internet Source	<1 %
22	www.ojs.iik.ac.id Internet Source	<1 %
23	hdl.handle.net Internet Source	<1 %
24	iopscience.iop.org Internet Source	<1 %
25	pt.scribd.com Internet Source	<1 %
26	repository.stikes-bhm.ac.id Internet Source	<1 %
27	repository.ump.ac.id Internet Source	<1 %
28	idoc.pub Internet Source	<1 %
29	Perwitasari Perwitasari, Mohammad Hakimi, Anjarwati Anjarwati. "The effect of maternal-	<1 %

fetal attachment education on pregnant women's mental health", Journal of Health Technology Assessment in Midwifery, 2019

Publication

---

Exclude quotes Off

Exclude bibliography On

Exclude matches Off

# HUBUNGAN ANTARA BERAT BADAN DENGAN KADAR GULA DARAH ACAK PADA TIKUS DIABETES MELLITUS

---

GRADEMARK REPORT

---

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

---

PAGE 1

---

PAGE 2

---

PAGE 3

---

PAGE 4

---

PAGE 5

---

PAGE 6

---