

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 70% BIJI *Nigella sativa*  
DAN *Trigonella foenum-graecum* TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE*  
*DISMUTASE* DAN *MALONDIALDEHYDE* HEPAR *Mus musculus* YANG  
DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
ICHA NADHIROTUL IZZA AFIDA  
NIM.17620117**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 70% BIJI *Nigella sativa*  
DAN *Trigonella foenum-graecum* TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE*  
*DISMUTASE* DAN *MALONDIALDEHYDE* HEPAR *Mus musculus* YANG  
DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
ICHA NADHIROTUL IZZA AFIDA  
NIM.17620117**

**diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 70% BIJI  
*Nigella sativa* DAN *Trigonella foenum-graecum*  
TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN  
MALONDIALDEHYDE HEPAR *Mus musculus* YANG  
DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ICHA NADHIROTUL IZZA AFIDA**  
NIM. 17620117

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
tanggal: 19 November 2021

**Pembimbing I**

  
**Prof. Dr. Retno Susilowati**  
NIP.196711131994022001

**Pembimbing II**

  
**Mujahidin Ahmad, M.Sc**  
NIP.198605122019031002

  
Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi  
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang  
  
**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.**  
NIP.197410182003122002

iii

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 70% BIJI *Nigella sativa* DAN *Trigonella foenum-graecum* TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN MALONDIALDEHYDE HEPAR *Mus musculus* YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ICHA NADHIROTUL IZZA AFIDA**  
NIM. 17620117

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai  
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
(S.Si.)

Tanggal: 1 Desember 2021

Ketua Penguji	Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. NIP.197410182003122002	
Anggota Penguji 1	Kholifah Holil, M.Si. NIP.197511062009122002	
Anggota Penguji 2	Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si NIP.196711131994022001	
Anggota Penguji 3	Mujahidin Ahmad, M.Sc. NIP.198605122019031002	

Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Biologi  
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.  
NIP. 19741018200312 2 002



## HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah Subhanahu Wata'ala atas rahmat dan karunia-Nya sehingga tugas akhir atau skripsi ini dapat terselesaikan. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada baginda rasul tercinta nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wasallam beserta keluarga, para sahabat dan pengikutnya. Skripsi ini dipersembahkan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Kedua orang tua tercinta, Bapak Subairi Adi Gunawan S.Ag dan Ibu Sihpiyanti yang telah mendidik, merawat, mendoakan serta memberikan semangat dengan sangat tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Tidak lupa pula pada Talita Zalfa Aulia, adik tercinta yang selalu mendoakan penulis.
2. Didik Wahyudi, M.Si., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan semangat kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
3. Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang banyak meluangkan waktu, tenaga, materi serta ilmu yang tidak terhingga untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Mujahidin Ahmad, M.Sc., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
5. Teman-teman "tim mencit diabetes" yang telah berjuang bersama dan banyak membantu dalam proses penelitian
6. Teman-teman Wolves Biologi 2017 dan D'werkewer 2017 yang selalu memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik.
7. Semua pihak yang telah membantu penulis menyelesaikan tugas akhir, semoga Allah Subhanahu Wata'ala yang membalasnya.

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Icha Nadhirotul Izza Afida

NIM : 17620117

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul skripsi : Pengaruh kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap kadar *superoxide dismutase* dan *malondialdehyde* hepar *Mus musculus* yang diinduksi streptozotocin

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 19 November 2021

Yang membuat pernyataan,



Icha Nadhirotul Izza Afida  
NIM. 17620117

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol 70% Biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* dan *Malondialdehyde* Hepar *Mus musculus* yang diinduksi Streptozotocin**

Icha Nadhirotul Izza Afida, Retno Susilowati, Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri  
Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRAK**

Diabetes melitus merupakan gangguan metabolisme tubuh yang ditandai dengan hiperglikemia. Hiperglikemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan meningkatnya radikal bebas tubuh dan tidak mampu diimbangi oleh antioksidan endogen sehingga terjadi stress oksidatif. Hal ini ditandai dengan meningkatnya kadar *superoxide dismutase* (SOD) dan menurunnya kadar *malondialdehyde* (MDA). Stres oksidatif yang tidak tertangani akan menyebabkan rusaknya beberapa organ, salah satunya adalah hepar. Jintan hitam dan klabet merupakan tanaman yang mampu memperbaiki kondisi stres oksidatif pada tubuh. Kombinasi keduanya diharapkan mampu secara efektif meningkatkan SOD dan menurunkan MDA. Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan dan 5 ulangan, yaitu N (Normal), P1 (DM+*Nigella sativa*), P2 (DM+ Kombinasi *Nigella sativa* + *Trigonella foenum-graecum*), P3 (DM+*Trigonella foenum-graecum*), K- (DM+Na-CMC), dan K+ (DM+metformin). Hewan yang digunakan adalah *Mus musculus* jantan berusia 12 minggu dengan berat badan 30-40 g. Penelitian ini menggunakan parameter SOD dan MDA hepar. Hasil penelitian dianalisis menggunakan *One-Way Anova* dan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% biji jintan hitam dan klabet berpengaruh nyata terhadap kadar SOD dan MDA. Dosis yang menunjukkan kadar SOD tertinggi dan kadar MDA terendah yaitu pada perlakuan 2 dengan dosis kombinasi biji *Nigella sativa* 100 mg/kg BB dan *Trigonella foenum-graecum* 50mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* dapat mempengaruhi kadar SOD dan MDA hepar mencit yang diinduksi streptozotocin secara signifikan.

Kata kunci: *Nigella sativa*, *Trigonella foenum-graecum*, etanol 70%, Streptozotocin, *Superoxide dismutase* (SOD), *Malondialdehyde* (MDA)

**The Effect of *Nigella sativa* and *Trigonella foenum-graecum* Combination on  
Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Levels in The Liver of  
Streptozotocin Induced *Mus musculus***

Icha Nadhirotul Izza Afida, Retno Susilowati, Mujahidin Ahmad

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic  
University of Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRACT**

Diabetes mellitus is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia. Prolonged hyperglycemia can cause an increase in body free radicals and cannot be balanced by endogenous antioxidants, resulting in oxidative stress. It is characterized by increased levels of superoxide dismutase (SOD) and decreased levels of malondialdehyde (MDA). Untreated oxidative stress will cause damage to several organs, one of which is the liver. Black cumin and fenugreek are plants that can improve oxidative stress conditions in the body. The combination of the two is expected to be able to effectively increase SOD and decrease MDA. This research is included in experimental research using Completely Randomized Design (CRD). This study used 6 treatments and 5 replications, namely N (Normal), P1 (DM+Nigella sativa), P2 (DM+ Combination of Nigella sativa + Trigonella foenum-graecum), P3 (DM+Trigonella foenum-graecum), K- (DM +Na-CMC), and K+ (DM+metformin). The animal used was a 12 week old male *Mus musculus* with a body weight of 30-40 g. This study used liver SOD and MDA parameters. The results of the analysis were analyzed using One-Way Anova and showed that the 70% ethanol extract of black cumin seeds and klabet had a significant effect on the levels of SOD and MDA. The dose that showed the highest SOD level and the lowest MDA level was in treatment 2 with a combination dose of Nigella sativa seeds 100 mg/kg BW and Trigonella foenum-graecum 50mg/kg BW. This shows that the combination of 70% ethanol extract of Nigella sativa seeds and Trigonella foenum-graecum can significantly affect SOD and MDA levels in the liver of streptozotocin-induced mice.

Keywords: *Nigella sativa*, *Trigonella foenum-graecum*, ethanol 70%, Streptozotocin, Superoxide dismutase (SOD), Malondialdehyde (MDA)

تأثير مزيج من مستخلص الإيثانول 70% من بذور الكمون الأسود والحلبة على مستويات ديسموتاز سوبروكسيد الناجم عن الستربتوزوتوسين ومالونديالدهيد في عضلات الهيبار موس

عيشا نظيروتول عزة عفيدة ، ريتنو سوسيلواتي ، مجاهدين أحمد

، برنامج دراسة الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا

جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

### ملخص

داء السكري هو اضطراب استقلابي يتميز بارتفاع السكر في الدم. يمكن أن يتسبب ارتفاع السكر في الدم لفترات طويلة في زيادة الجذور الحرة في الجسم ولا يمكن موازنته بمضادات الأكسدة الذاتية ، مما يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي. يتميز بزيادة مستويات SOD وانخفاض مستويات MDA. يؤدي عدم معالجة الإجهاد التأكسدي إلى تلف العديد من الأعضاء ، أحدها الكبد. الكمون الأسود والحلبة من النباتات التي يمكن أن تحسن ظروف الإجهاد التأكسدي في الجسم. من المتوقع أن يؤدي الجمع بين الاثنين إلى زيادة فعالية SOD وتقليل MDA. تم تضمين هذا البحث في البحث التجريبي باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) استخدمت هذه الدراسة 6 علاجات و 5 مكررات ، وهي N (عادي) ، P1 (DM + *Nigella sativa*) ، P2 (DM + *Nigella sativa* + *Trigonella foenum-graecum*) ، P3 (DM + *Trigonella foenum-graecum*) ، K + (DM + K) و (DM + Na-CMC) ، K + (DM + K) ميتفورمين . (كان الحيوان المستخدم ذكرًا يبلغ من العمر 12 أسبوعًا ويبلغ وزن جسمه 30-40 جم. استخدمت هذه الدراسة معاملات الكبد SOD و MDA. تم تحليل نتائج التحليل باستخدام One-Way Anova وأظهرت أن 70% من مستخلص الإيثانول من بذور الكمون الأسود وكلاهما له تأثير معنوي على مستويات SOD و MDA. كانت الجرعة التي أظهرت أعلى مستوى من SOD وأدنى مستوى MDA في المعاملة 2 بجرعة مركبة من بذور حبة البركة 100 ملجم / كجم من وزن الجسم و 50 *Trigonella foenum-graecum* ملجم / كجم من وزن الجسم. يوضح هذا أن الجمع بين مستخلص الإيثانول بنسبة 70% من بذور حبة البركة و *Trigonella foenum-graecum* يمكن أن يؤثر بشكل كبير على مستويات SOD و MDA في كبد الفئران التي يسببها الستربتوزوتوسين.

الكلمات المفتاحية: الكمون الأسود ، الحلبة ، 70% إيثانول ، الستربتوزوتوسين ، سوبروكسيد ديسموتاز (SOD) ، مالونديالدهيد (MDA)

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr.Wb*

*Bismillahirrohmanirrohim*, segala puji hanya untuk Allah ﷻ yang telah memberikan berkah, rahmat serta ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Pengaruh kombinasi ekstrak etanol 70% *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap kadar *superoxide dismutase* dan *malondialdehyde* hepar *Mus musculus* yang diinduksi streptozotocin”. Tidak lupa pula sholawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad ﷺ yang telah menegakkan agama islam yang terpatri hingga akhir zaman. *Aamiin*.

Berkat bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terimakasih yang tidak terhingga khususnya kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Hariani, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si dan Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku pembimbing I dan pembimbing II, yang telah membimbing dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Didik Wahyudi, M.Si selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani menulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
7. Ayah dan Ibu serta keluarga tercinta yang telah memberikan doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
8. Teman-teman seperjuangan Biologi dan teman 1 tim yang sudah bekerja sama untuk mencapai hasil yang diinginkan serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah ﷻ. Skripsi ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila terdapat kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 19 November 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

COVER .....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	vi
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT.....	ix
ملخص.....	x
KATA PENGANTAR .....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Hipotesis.....	8
1.5 Manfaat Penelitian.....	9
1.6 Batasan Masalah.....	9
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Diabetes Melitus.....	10
2.1.1 Klasifikasi Diabetes Melitus .....	11
2.1.2 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2 .....	12
2.2 Streptozotocin.....	13
2.3 Hewan Coba Diabetes Melitus .....	14
2.4 <i>Malondialdehyde</i> .....	17
2.5 <i>Superoxide Dismutase</i> .....	18
2.6 SOD dan MDA Hepar pada Diabetes Melitus .....	19
2.7 Jintan Hitam .....	20
2.8 Klabet .....	23
2.9 Hubungan Jintan Hitam dan Klabet terhadap SOD dan MDA Hepar .....	25
2.4 Kerangka Konsep .....	27
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Rancangan Penelitian .....	29
3.2 Variabel Penelitian .....	29
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	30
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian .....	30
3.5 Alat dan Bahan .....	31
2.5.1 Alat.....	31

2.5.2 Bahan .....	32
3.6 Prosedur Kegiatan .....	32
3.6.1 Persiapan .....	32
3.6.1.1 Pembuatan Larutan Streptozotocin .....	32
3.6.1.2 Pembuatan Sediaan Uji .....	33
3.6.1.3 Pemeliharaan Mencit .....	33
3.6.2 Pelaksanaan .....	34
3.6.2.1 Pembuatan Hewan Model Diabetes Melitus Tipe 2 .....	34
3.6.1.2 Pembuatan Larutan Na-CMC 0.5% .....	35
3.6.1.3 Penentuan Dosis Metformin .....	35
3.6.3 Pengambilan Data .....	35
3.6.3.1 Pembuatan Lisat Hepar .....	35
3.6.3.2 Pengukuran Kadar SOD .....	36
3.6.3.3 Pengukuran Kadar MDA .....	36
3.6.3.3.1 Pembuatan Kurva Standar .....	36
3.6.3.3.2 Pengukuran Kadar MDA .....	37
3.7 Analisis Data .....	37
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Penelitian.....	38
4.1.1 Pengaruh Kombinasi EKstrak Etanol 70% Biji <i>Nigella sativa</i> dan <i>Trigonella foenum-graecum</i> terhadap Kadar SOD Hepar <i>Mus musculus</i> yang diinduksi Streptozotocin .....	39
4.1.2 Pengaruh Kombinasi EKstrak Etanol 70% Biji <i>Nigella sativa</i> dan <i>Trigonella foenum-graecum</i> terhadap Kadar MDA Hepar <i>Mus musculus</i> yang diinduksi Streptozotocin .....	40
4.2 Pembahasan .....	42
<b>BAB V. PENUTUP</b>	
4.1 Kesimpulan.....	53
4.2 Saran .....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>63</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.7. Senyawa Aktif <i>Nigella sativa</i> .....	22
Tabel 4.1. Hasil Uji Duncan Rata-Rata Kadar SOD Hepar Mencit.....	40
Tabel 4.2. Hasil Uji Duncan Rata-Rata Kadar MDA Hepar Mencit .....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1. Biji Jintan Hitam .....	21
Gambar 2.2. Tumbuhan Klabet dan Bijinya .....	18
Gambar 2.3. Kerangka Konsep Penelitian .....	27
Gambar 4.1. Diagram Rata-Rata Perubahan Aktivitas SOD pada Hepar Mencit setelah Pemberian Terapi .....	40
Gambar 4.2. Diagram Rata-Rata Perubahan Aktivitas MDA pada Hepar Mencit setelah Pemberian Terapi .....	42
Gambar 4.3. SOD, CAT dan GPx adalah antioksidan endogen utama tubuh..	46
Gambar 4.4. Mekanisme terbentuknya <i>Malondialdehyde</i> .....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian .....	63
Lampiran 2 Data Kadar SOD Hepar Mencit .....	64
Lampiran 3 Data Kadar MDA Hepar Mencit .....	65
Lampiran 4 Perhitungan Statistik SOD Hepar Mencit .....	66
Lampiran 5 Perhitungan Statistik MDA Hepar Mencit .....	70
Lampiran 6 Gambar Penelitian .....	74

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) adalah salah satu penyakit degeneratif yang memiliki ciri khas yaitu kadar glukosa dalam darah yang tinggi atau hiperglikemia (Suhariningsih *et al.*, 2020). Hiperglikemia terjadi ketika hormon insulin tidak mampu meregulasi homeostatis glukosa dalam darah yang berakibat pada gangguan metabolisme tubuh. Gangguan pada sekresi insulin dapat disebabkan karena terjadi kerusakan pada sel beta pankreas yang menjadi tempat produksi hormon insulin. Sedangkan gangguan pada kerja insulin dapat disebabkan karena terjadi resistensi insulin dalam tubuh. Hal ini terjadi ketika sel-sel dalam tubuh tidak mampu merespon insulin, sehingga glukosa tetap terakumulasi dalam darah. (Alberti & Zimmet, 1998).

Kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan komplikasi seperti disfungsi hingga rusaknya beberapa organ tubuh, salah satunya pada organ hepar (Muhammad *et al.*, 2016). Hepar adalah organ paling besar dalam tubuh yang berperan dalam setiap metabolisme (Tellingan, 2003). Hepar berfungsi sebagai penetralisir racun tubuh. Hepar juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan glukosa cadangan atau glikogen yang dapat dirombak ketika sel membutuhkan energi namun tidak mendapat glukosa dari luar sel (Aji, 2009).

Kondisi hiperglikemia juga dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas. Salah satu radikal bebas yang dihasilkan tubuh adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Moskovitz *et al.*, 2002). Pada dasarnya, ROS dihasilkan dalam metabolisme tubuh yang normal. Namun, pada kondisi hiperglikemia, ROS yang dihasilkan di luar batas normal sehingga dapat menyebabkan mutasi DNA, oksidasi protein dan

peroksidasi lipid (Shi & Vanhoutte, 2009). Produksi ROS meningkat pesat pada penderita diabetes melitus yang dapat menyebabkan berbagai komplikasi (Dandona *et al.*, 1996).

Radikal bebas atau oksidan yang dihasilkan tubuh dapat dinetralkan oleh antioksidan. Antioksidan merupakan lini pertahanan pertama tubuh untuk menangkal radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas dalam tubuh dengan cara mendonasikan salah satu elektronnya (Flora, 2007). Antioksidan mengalami penurunan produksi pada kasus diabetes melitus. Hal ini disebabkan adanya penghambatan produksi antioksidan sehingga tidak mampu mengimbangi radikal bebas yang terus dihasilkan (Dembinska-Kiec *et al.*, 2008). Pada dasarnya, Allah ﷻ telah menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi dengan ukuran yang rapi dan sesuai kebutuhan yang dibutuhkan, begitu pula dengan ukuran oksidan dan antioksidan dalam tubuh. Hal ini termaktub dalam firman Allah ﷻ dalam ayat suci Al-Qur'an surah Al-Furqon ayat 2 sebagai berikut:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ  
فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: “Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.”(QS: Al-Furqon [25]: 2).

Kata (وَخَلَقَ) bermakna “menciptakan”, (كُلُّ شَيْءٍ) bermakna “segala sesuatu”, kata (فَقَدَرَهُ) bermakna “lalu Allah ﷻ telah berkali-kali menentukannya” dan (تَقْدِيرًا) bermakna “ dengan ukuran” yang berarti bahwa Allah ﷻ telah menciptakan makhluk-Nya yang ada di bumi dengan ukuran yang telah Allah ﷻ tentukan secara tepat, teliti dan sangat sempurna (Al-Mahally & As-Suyuthy, 2016). Menurut tafsir Al-Azhar, Allah berfirman “dan Dia telah menciptakan segala sesuatu”, yang

bermakna menciptakan seluruh alam termasuk hewan, manusia, tumbuh-tumbuhan dan bahkan benda mati. “lalu Dia menetapkan ukuran-ukuran-Nya dengan serapi-rapinya.” Allah memberikan sesuatu pada setiap makhluk-Nya dan pemberian itu sudah sesuai dengan kebijaksanaan-Nya terkait kadar dan ukuran. Jika sesuatu tersebut tidak sesuai dengan ukuran dan tempatnya, maka tidak akan terjadi keseimbangan dan akan menimbulkan ketidakcocokan (Hamka, 1984).

Produksi ROS yang terus meningkat dan tidak mampu diimbangi oleh antioksidan dapat menyebabkan kondisi stres oksidatif (Feillet-Coudray *et al.*, 1999). Kondisi ini sering kali terjadi pada penderita diabetes melitus (Bayir, 2005). Kondisi hiperglikemia meningkatkan produksi ROS melalui reaksi oksidasi reduksi. Reaksi tersebut akan mendorong lebih banyak donor elektron NADH (bentuk reduksi dari *Nicotinamide Adenine Dinucleotide*) dan FADH<sub>2</sub> (bentuk reduksi dari *Flavin Adenine Dinucleotide*) masuk ke dalam rantai transpor elektron dan menyebabkan peningkatan laju pada transpor elektron (Wiyono, 2003). Hal ini akan meningkatkan pembentukan anion superoksida yang merupakan salah satu bentuk radikal bebas (Rahmawati dkk., 2014). Peningkatan anion superoksida dapat menginaktivasi antioksidan yang disebabkan adanya modifikasi oksidatif (Gupta & Chari, 2005).

Kondisi stres oksidatif pada diabetes melitus akan berdampak pada hepar. Hepar merupakan organ utama yang sering diserang oleh ROS. Sel Kuppfer dan sel endotel berpotensi lebih besar terkena ROS. Ketika ROS dalam hepar tidak mampu diimbangi dengan produksi antioksidan endogen, maka dapat memicu kerusakan hepar kronis (Li *et al.*, 2015). Kerusakan sel hepar terjadi pada asam lemak tak jenuh fosfolipid yang terdapat pada membran sel. Ketika ROS menyerang, maka

akan terjadi peningkatan MDA dan penurunan SOD pada hepar (Widyaningsih, dkk., 2015).

*Malondialdehyde* (MDA) adalah produk sampingan yang memiliki sifat toksik terhadap sel dalam tubuh (Marnett, 1999). MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid (Gawet *et al.*, 2004). Peroksidasi lipid terjadi ketika radikal bebas menyerang lipid yang mengandung ikatan rangkap karbon, terutama PUFAs (*Polyunsaturated Fatty Acids*) (Ayala *et al.*, 2014). MDA meningkat pesat pada kasus diabetes melitus dan digunakan sebagai penanda stres oksidatif (Slatter *et al.*, 2000).

*Superoxide dismutase* (SOD) merupakan enzim antioksidan endogen yang berfungsi sebagai pertahanan garis pertama terhadap ROS (Ighodaro & Akinloye, 2018). Kekurangan SOD akan mengakibatkan peningkatan pembentukan peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) yang terjadi akibat reaksi antara anion superoksida ( $\text{O}^-$ ) dan oksida nitrat (NO) sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada DNA, protein dan lipid (Naso *et al.*, 2011). Kondisi hiperglikemia menyebabkan penurunan aktivitas SOD dengan cara meningkatkan metabolisme glukosa alternatif dan menghasilkan radikal bebas lebih banyak (Rahmawati dkk., 2015).

Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting dalam menjaga kondisi tubuh yang sehat. Ketika dalam kondisi fisiologis normal, antioksidan endogen seperti SOD memungkinkan dapat mereduksi ROS. Namun, sistem pertahanan antioksidan juga dilengkapi dengan antioksidan eksogen seperti vitamin C, vitamin E, karotenoid, polifenol, flavonoid, dan antosianin (Bouayed & Bohn, 2010). Bahan aktif tersebut sangat mudah ditemukan di tumbuh-tumbuhan

(Suhamiarti & Roosihermiatie, 2012). Allah ﷻ berfirman dalam surah Asy-Syu'araa ayat 7 yang berbunyi sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (QS: Asy-Syu'araa [26]: 7).

Kata ( زَوْج ) mempunyai makna pasangan. Pada ayat ini yang dimaksud pasangan merupakan tumbuhan pun memiliki pasangan untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Kata ( كَرِيم ) mengisyaratkan segala sesuatu yang baik, yakni tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat (Hamka, 1984). Setiap tumbuhan yang telah Allah tumbuhkan di bumi akan memiliki manfaat bagi makhluk-Nya terutama dalam pengobatan. Jika manusia memperhatikan bumi dengan penuh rasa syukur dan ingin tahu, maka manusia akan merasakan kasih sayang Allah ﷻ yang sangat luar biasa terhadap makhluk-Nya, salah satunya dengan penciptaan berbagai macam tumbuhan yang mampu digunakan sebagai obat alami dalam mengatasi berbagai macam penyakit (Shihab, 2002).

Sumber alami dari tumbuhan, hewan dan mikroorganisme menyediakan berbagai macam sumber senyawa aktif. Senyawa aktif tersebut juga banyak menawarkan solusi untuk berbagai macam penyakit. Obat herbal dapat menjadi alternatif untuk mengurangi efek samping yang dihasilkan obat sintetik (Suhamiarti & Roosihermiatie, 2012). Beberapa tumbuhan yang memproduksi metabolit sekunder seperti terpenoid, alkaloid dan senyawa fenolik sering digunakan sebagai pertahanan melawan zat berbahaya yang mengancam tubuh (Muhammad *et al.*, 2016).

Jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah tumbuhan yang memiliki potensial besar sebagai tumbuhan obat sebagai antioksidan. Biji jintan hitam kaya akan antioksidan eksogen yang dapat membantu meningkatkan kadar antioksidan dan membantu antioksidan endogen untuk melawan radikal bebas yang menyerang tubuh (Mozaffari *et al.*, 2000). Jintan hitam dapat menyembuhkan segala macam penyakit kecuali maut (kematian). Pernyataan ini sesuai dengan hadist Shahih Al-Bukhari no. 5255 sebagaimana berikut:

إِنَّ هَذِهِ الْحَبَّةَ السُّودَاءَ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا مِنْ السَّامِ قُلْتُ وَمَا السَّامُ قَالَ الْمَوْتُ

Artinya: “*Sesungguhnya habbatus sauda’ ini adalah obat dari segala macam penyakit kecuali saam*” aku bertanya: “*Apakah sam itu?*” beliau menjawab: “*kematian.*” (H.R Al-Bukhari).

Hadist tersebut merupakan hadist yang menjadi dasar bahwa jintan hitam (*habbatus sauda’*) merupakan obat dari segala macam penyakit. Kecuali kematian. Hal ini dikarenakan kematian bukanlah penyakit (Safarsyah, 2018). Jintan hitam terkenal dengan efek antioksidannya yang mampu melindungi jaringan dari radikal bebas penyebab berbagai macam penyakit berbahaya (Azzubaidi *et al.*, 2012). Biji jintan hitam mengandung berbagai senyawa aktif, salah satunya adalah flavonoid dan timokuinon yang bersifat sebagai antioksidan eksogen (Abbasnezhad, 2015).

Selain jintan hitam, terdapat pula tumbuhan klabet (*Trigonella foenum-graecum*) yang telah dibuktikan memiliki aktivitas antioksidan (Kumar & Bhandari, 2013). Skrining awal pada klabet menunjukkan bahwa mengandung karbohidrat, steroid dan alkaloid (trigonan, trigokumarin dan trimekumarin) yang bersifat antihiperqlikemik (Mowla *et al.*, 2009). Klabet juga mengandung galaktomanan yang mampu mengurangi penyerapan glukosa di usus sehingga mampu membantu mengontrol glukosa darah (Srichamroen *et al.*, 2008). Selain itu,

klabet juga bersifat antioksidan yang disebabkan karena adanya kuersetin dari golongan flavonoid (Stochmaova *et al.*, 2013).

Pemilihan pelarut dan tingkat kepolarannya harus sesuai supaya kandungan bahan aktif dapat diekstrak dengan maksimal. Setiap bahan aktif membutuhkan pelarut dan tingkat kepolaran yang berbeda (Markham, 1988). Jintan hitam dan klabet memiliki kandungan bahan aktif fenolik dan flavonoid yang tinggi sebagai antioksidan. Bahan aktif tersebut merupakan senyawa yang terlarut dalam pelarut polar seperti etanol (Amin dkk., 2015).

Beberapa penelitian tentang jintan hitam dan klabet membuktikan adanya aktivitas antioksidan yang baik (Mollazadeh & Hossein, 2014 ; Subhashini *et al.*, 2011). Pemberian terapi *Nigella sativa* dapat menghambat terbentuknya ROS dan meningkatkan enzim SOD dan glutathione. Hal ini karena adanya senyawa aktif *thymoquinone* (Alenzi *et al.*, 2013). Ekstrak *Trigonella foenum-graecum* menunjukkan adanya peningkatan level pada antioksidan endogen di hepar, salah satunya ada SOD (Genet, 2002). Komposisi bahan aktif pada *Trigonella foenum-graecum* mengindikasikan adanya komponen fenolik, salah satunya adalah tannin dan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan (Subashini *et al.*, 2011). Selain itu juga terdapat asam amino 4-hidroksileusin yang berfungsi untuk meningkatkan sekresi insulin, mengurangi glukosa darah dan mengurangi tingkat stress oksidatif (Jette *et al.*, 2009).

Penelitian aktivitas bahan aktif *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* secara in-vitro yang dilakukan oleh Hameed *et al* (2019) menunjukkan bahwa kombinasi keduanya bekerja sinergis sebagai antioksidan. Alasan di atas menjadi alasan dilakukannya penelitian ini. Kombinasi ekstrak biji *Nigella sativa*

dan *Trigonella foenum-graecum* secara in-vivo diharapkan mampu meningkatkan antioksidan dan mengurangi tingkat stress oksidatif pada penderita diabetes melitus.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah apakah terdapat pengaruh kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap kadar *superoxide dismutase* dan *malondialdehyde* hepar *Mus musculus* yang diinduksi dengan streptozotocin?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap kadar *superoxide dismutase* dan *malondialdehyde* hepar *Mus musculus* yang diinduksi dengan streptozotocin.

## **1.4 Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat pengaruh kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap kadar *superoxide dismutase* dan *malondialdehyde* hepar *Mus musculus* yang diinduksi dengan streptozotocin.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai perbedaan kadar *superoxide dismutase* dan *malondialdehyde* hepar kondisi diabetes yang

telah diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.).

2. Penelitian ini juga diharapkan supaya ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) dapat digunakan dalam terapi pada penderita diabetes melitus sebagai obat herbal yang aman.

### **1.6 Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan yang berusia 12 minggu. Rata-rata berat badan yang dimiliki adalah 20-40 g.
2. Dosis streptozotocin yang digunakan untuk menginduksi terjadinya hiperglikemia adalah dosis 45 mg/kg BB yang diinjeksi selama 3 hari berturut-turut dan dosis 60 kg/BB yang diinjeksikan selama 2 hari dengan selang 1 hari.
3. Dosis ekstrak yang digunakan adalah 200 mg/kg BB *Nigella sativa* dan 100 mg/kg BB *Trigonella foenum-graecum* serta kombinasi keduanya dengan dosis 100 mg/kg BB ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan 50 mg/kg BB ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum*).
4. Kontrol positif menggunakan obat sintetik metformin. Dosis yang digunakan adalah 65 mg/kg BB
5. Parameter yang digunakan adalah kadar *superoxide dismutase* (SOD) dan *malondialdehyde* (MDA) yang diperoleh dari organ hepar mencit.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Melitus**

Sel-sel  $\beta$  pankreas memproduksi hormon insulin yang merupakan salah satu jenis hormon peptida (Fargion *et al.*, 2005). Masuknya glukosa ke dalam sel  $\beta$  pankreas yang diperantarai oleh transporter glukosa akan menstimuli terjadinya sekresi insulin (Mcgarry & Dobbins, 2000). Hormon insulin mempunyai kendali dalam mengatur keseimbangan glukosa, meminimalisir keluaran glukosa oleh hati dengan cara mengurangi proses glukoneogenesis dan glikogenolisis. Selain itu, keseimbangan glukosa juga dapat dijaga dengan cara meningkatkan laju pemasukan glukosa ke dalam sel, seperti sel otot dan jaringan adiposa yang merupakan sel yang banyak mengambil glukosa (Pessin & Steil, 2000). Kelainan yang terjadi pada sekresi dan kerja insulin akan mengakibatkan kondisi glukosa darah yang tinggi atau hiperglikemia. Hiperglikemia merupakan kelainan metabolisme tubuh dan merupakan ciri utama dari penyakit diabetes melitus (Muhammad *et al.*, 2016).

Diabetes melitus atau yang lebih akrab dengan sebutan kencing manis merupakan gangguan metabolisme pada sistem endokrin. Data yang didapatkan pada tahun 2013 menunjukkan bahwa angka penderita diabetes melitus dalam skala global sekitar 8,3% (terjadi pada usia 20-79 tahun). Angka ini akan terus mengalami peningkatan dan diperkirakan akan mencapai angka 592 juta pasien diabetes melitus pada tahun 2035 (Pang *et al.*, 2015). Penyebab dari diabetes melitus adalah kerusakan pada pankreas ataupun karena resistensi insulin. (Suhariningsih *et al.*, 2020).

### 2.1.1 Klasifikasi Diabetes Melitus

Semenjak diabetes melitus menjadi penyakit degeneratif tertinggi, banyak dilakukan penelitian mengenai mekanisme dan penanganannya. Suatu penelitian yang menggunakan teknik *radioimmunoassay* menemukan adanya perbedaan mekanisme dalam terjadinya hiperglikemia pada diabetes melitus. Perbedaan itu lalu akhirnya dikenal dengan *insulin dependent diabetes mellitus* (diabetes melitus tipe 1) dan *non-insulin dependent diabetes mellitus* (diabetes melitus tipe 2) (Zaccardi *et al.*, 2016).

*Insulin dependent diabetes mellitus* atau diabetes melitus tipe 1 (DM1) merupakan penyakit DM yang disebabkan karena gangguan autoimun. DM1 ditandai dengan terjadinya kerusakan yang masif pada sel  $\beta$  pankreas. Hal ini diduga karena sel-sel imun tubuh yang merusak sel  $\beta$  pankreas. Bahkan diketahui bahwa 2/3 dari sel  $\beta$  pankreas sudah tidak mampu mensekresikan insulin. Pada kasus ini, diketahui tidak terjadi kerusakan pada sel pankreas yang lain seperti sel  $\alpha$  yang mensekresikan glukagon, sel  $\delta$  yang mensekresi somatostatin dan PP yang mensekresi polipeptida (Zaccardi *et al.*, 2016).

Penyakit DM1 biasanya menyerang anak-anak atau remaja. Hal ini bisa terjadi karena faktor gen. DM1 memiliki ciri khas yaitu penurunan berat badan secara drastis dan tidak terkontrol. Pada kondisi DM1 juga terjadi poliuria, polifagia dan dehidrasi yang tidak wajar. Terjadinya polifagia dan dehidrasi dikarenakan sel tubuh mengalami kehilangan kemampuan untuk menangkap nutrisi yang tersedia, salah satunya glukosa (Ragavan & Krishnakumari, 2009).

*Non-insulin dependent diabetes mellitus* atau yang sering disebut sebagai diabetes melitus tipe 2 (DM2) merupakan kondisi hiperglikemia yang disebabkan karena resistensi insulin. Resistensi insulin merupakan kondisi ketika sel-sel tubuh kehilangan kemampuan untuk merespon insulin. Ketika hal ini terjadi, sel-sel tubuh tidak mampu mendapatkan glukosa karena tidak terjadi proliferasi pada transporter glukosa. Glukosa akan terus terakumulasi dalam darah dan tidak dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh tubuh (Ostenson, 2001).

### **2.1.2 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2**

Jumlah penderita kasus diabetes melitus mencapai angka 80% di setiap negara. Diabetes melitus menyumbang angka kematian sekitar 4,6 juta jiwa pada tahun 2011. Lonjakan kasus akan terus terjadi dan diperkirakan pasien diabetes melitus menyentuh angka 439 juta jiwa pada tahun 2030. Gaya hidup dan faktor lingkungan menjadi pengaruh utama dalam kejadian diabetes melitus tipe 2 (Zimmet *et al.*, 2001). Seperti yang telah dibahas pada sub bab sebelumnya, DM2 terjadi karena peristiwa resistensi insulin. Kondisi ini selain mengakibatkan kondisi hiperglikemia, juga dapat menyebabkan kondisi hiperinsulinemia. Hal ini disebabkan karena tingginya glukosa dalam darah akan mengakibatkan sel pankreas terstimuli untuk mensekresikan insulin (Olokoba *et al.*, 2012). Selain terjadinya hiperinsulinemia, dapat pula terjadi berbagai komplikasi seperti dislipidemia dan hipertensi bahkan hingga mengarah ke penyakit yang lebih serius seperti kardiovaskular (Baynest, 2015).

Asam lemak bebas (*free fatty acid*) atau yang biasa disingkat dengan FFA juga dapat menyebabkan komplikasi pada keadaan diabetes melitus. Kelebihan FFA akan disimpan dalam jaringan non adiposa yang dapat mengakibatkan

terjadinya kenaikan intramioseluler lipid. Kondisi ini juga dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin (Tobe *et al.*, 2005). Terjadinya peningkatan FFA akan mengakibatkan asetil CoA mitokondria memperlambat aktifitas enzim dehydrogenase piruvat. Kondisi ini akan mempercepat produksi sitrat yang berakibat turunnya aktivitas fosfofruktokinase. Proses selanjutnya adalah glukosa-6-fosfat akan meningkat dan menghambat aktifitas dari heksokinase. Terhambatnya heksokinase akan mengurangi fosforilasi transporter glukosa. Ketika transporter glukosa tidak terfosforilasi, glukosa tidak dapat masuk kedalam sel dan akan terakumulasi dalam darah (Griffin *et al.*, 2000).

## 2.2 Streptozotocin

Streptozotocin merupakan suatu zat yang dapat menghambat kerja insulin sehingga sering kali digunakan sebagai agen diabetogenik (Lenzen, 2008). Streptozotocin (STZ) atau 2-deoksi-2-(3-(-metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranosose) diperoleh dari bakteri *Streptomyces achromegenes*. Fungsi agen diabetogenik tersebut menyebabkan STZ sering kali digunakan pada hewan coba untuk membuat kondisi diabetes melitus. Aplikasi STZ dapat diinjeksikan melalui intravena maupun intraperitoneal. Dosis STZ yang digunakan juga bervariasi. Dosis tunggal 40-60 mg/kg BB STZ yang diinjeksikan secara intravena terhadap hewan coba dapat mengindikasikan terjadinya DM1. Dosis tunggal dibawah 40 mg/kg BB dinilai tidak efektif untuk menyebabkan hiperglikemia. Selain dosis tunggal, STZ juga bisa diinjeksikan menggunakan dosis rendah berulang (Szkudelski, 2001).

Nitrit oksida atau NO adalah molekul yang memiliki peran penting dalam persinyalan fisiologis namun dapat berbahaya jika diproduksi secara berlebihan. Produksi NO yang berlebihan akan mengakibatkan reaksi oksidatif sehingga

membentuk senyawa beracun yaitu stres nitrosatif. Stres nitrosatif merupakan kondisi saat antioksidan tidak mampu mengimbangi produksi nitrit oksida sehingga dapat menjadi racun dan berbahaya bagi sel tubuh (Richa *et al.*, 2017).

STZ dapat menjadi penyebab utama rusaknya pankreas. Selain sebagai donor NO, STZ juga menghasilkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang juga mengambil peran penting dalam perusakan DNA sel. Pembentukan ROS yang semakin meningkat oleh STZ akan meningkatkan produksi xanthin oksidase pada mitokondria. Proses ini mengakibatkan terhambatnya siklus krebs dan menurunkan produksi ATP sel. Selain ATP yang menurun, ROS yang semakin meningkat akan mengakibatkan tipisnya nukleotida di sel  $\beta$  pankreas. Berkurangnya jumlah produksi ATP pada sel juga disebabkan oleh NO yang menghambat kerja enzim acotinase dengan cara berikatan dengan besi. Kerusakan DNA menyebabkan penipisan NAD<sup>+</sup> seluler dan penurunan ATP yang tidak terkontrol. Akibatnya, penghambatan sintesis dan sekresi insulin pun terjadi (Szkudelski, 2001).

### **2.3 Hewan Coba Diabetes Melitus**

Mencit memiliki nama ilmiah *Mus musculus* dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom: Animalia

Filum: Chordata

Kelas: Mamalia

Ordo: Rodentia

Family: Muridae

Genus: Mus

Spesies: *Mus musculus* (ITIS, 2011).

Berdasarkan klasifikasi diatas, mencit termasuk dalam golongan mamalia yang berkaki empat. Mencit juga termasuk dalam ordo rodentia yang mengisyaratkan bahwa mencit merupakan hewan pengerat. Hal ini dapat dilihat dari gigi mencit yang lancip dan tajam. Mencit sering digunakan sebagai hewan model. Alasannya karena mencit memiliki beberapa kemiripan metabolisme dengan manusia. Selain itu, mencit juga memiliki siklus hidup yang pendek, mudah ditangani dan memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi (Nugroho, 2018). Firman Allah ﷻ tentang hewan yang ada di bumi ini termaktub dalam surah An-Nuur ayat 45:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya: *“Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan diatas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki, sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah maha kuasa atas segala sesuatu.”* (QS: An-Nuur [24]: 45).

Kalimat (وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ) menurut Tafsir Al-Misbah, bermakna bahwa semua Allah adalah pencipta segala sesuatu dengan kehendak-Nya. Dia menciptakan semua jenis hewan dari asal yang sama yaitu air. Tidak ada satupun hewan yang tidak membutuhkan air (Shihab, 2002). Menurut Tafsir Jalalayn, Kalimat ( فَمِنْهُمْ مَّن ) (يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ) memiliki makna bahwa hewan yang ada di bumi berjalan dengan caranya masing-masing. Ada yang berjalan menggunakan perutnya, yakni buaya dan beberapa hewan melata lainnya. Selanjutnya terdapat kalimat ( وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى )

(رَجُلَيْنِ) yang bermakna beberapa diantaranya berjalan menggunakan dua kaki, seperti manusia. Terakhir, pada kalimat (وَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ) memiliki makna bahwa sebagian lagi berjalan menggunakan empat kaki seperti beberapa hewan ternak dan hewan liar di hutan (Al-Mahally & As-Suyuthy, 2016). Adanya binatang serangga, ular yang menjalar serta kuda yang berlari merupakan bentuk kekuasaan Allah. Hewan-hewan yang ada di bumi menyimpan berbagai macam manfaat terutama untuk manusia (Hamka, 1984).

Hewan memiliki banyak manfaat bagi manusia, salah satunya adalah sebagai hewan model dalam mempelajari patogenesis dari suatu penyakit yang berguna untuk menemukan obatnya. Hewan model dibagai menjadi dua tipe. Tipe pertama merupakan hewan model spontan yang berarti bahwa hewan model tersebut sudah memiliki kelainan secara genetik. Kelainan ini dapat disebabkan oleh beberapa hal, salah satunya adalah mutasi spontan. Tipe kedua merupakan hewan model induksi. Tipe ini tidak memiliki kelainan secara genetik namun fisiologis normalnya akan dimodifikasi sehingga terdapat perubahan. Hewan model induksi dapat dibuat dengan cara dilakuakn pembedahan, modifikasi genetik bahkan pemberian zat-zat kimia pada hewan tersebut. Hewan model induksi lebih sering digunakan dalam beberapa penelitian. Ini dikarenakan pemeliharaan hewan model induksi lebih mudah dan ketersediaan lebih banyak. Selain itu juga karena biaya yang relatif lebih murah dan metode induksi yang dapat dimodifikasi sedemikian rupa sesuai keinginan peneliti (Husna *et al.*, 2019).

Hewan model diabetes melitus diinduksi sedemikian rupa sehingga memiliki tingkat petogenesitas yang mirip dengan manusia. Tujuan penginduksian hewan cpba diabetes melitus adalah untuk menetapkan diagnosis, melakukan pencegahan

bahkan menemukan obat untuk terapi diabetes melitus. Namun perlu diingat bahwa kondisi fisiologis yang terjadi pada hewan model induksi tidak selalu menunjukkan kemiripan yang sempurna dengan fisiologis sesungguhnya yang terjadi pada manusia. Hewan model diabetes melitus dapat diinduksi dengan berbagai macam zat kimia seperti aloksan, streptozotocin, asam urat, asam dehidroaksorbat dan asam dialurat. Zat-zat kimia tersebut akan mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  Langerhans pankreas (Erwin, *et al.*, 2013).

#### **2.4 Malondialdehyde**

*Malondialdehyde* (MDA) adalah produk utama dari hasil peroksidasi lipid. MDA merupakan produk yang paling mutagenik (Esterbauer *et al.*, 1990). Peroksidasi lipid terjadi ketika terjadi stres oksidatif yang tidak terkontrol. ROS dapat menimbulkan kerusakan langsung pada lipid. ROS yang paling umum mempengaruhi peroksidasi lipid adalah hidroksil (OH) dan hidroperoksil (HO<sub>2</sub>) (Ayala *et al.*, 2014).

Peroksidasi lipid akibat radikal bebas dapat terjadi dengan tiga tahapan reaksi berantai yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Inisiasi adalah tahap ketika PUFA (*poly unsaturated fatty acid*) bereaksi dengan radikal bebas sehingga membentuk lipid yang bersifat radikal. Propagasi merupakan tahap ketika lipid radikal yang telah terbentuk bereaksi dengan oksigen (O<sub>2</sub>) dan menghasilkan radikal peroksil lipid. Tahap terminasi adalah tahap ketika radikal peroksil lipid bertemu dengan *unsaturated fatty acid* sehingga mengkombinasikan dua produk radikal. Hasil dari proses ini adalah peroksidasi lipid yang akan mengeluarkan MDA (Murray dkk., 2000).

MDA sudah sering kali digunakan sebagai penanda stres oksidatif. Pengukuran terhadap kadar MDA biasa dilakukan menggunakan metode *thiobarbituric acid* (TBA). Reaksi kondensasi molekul MDA dan TBA menjadi dasar dalam melakukan tes TBA. Hasil yang diperoleh adalah pigmen berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm. Jumlah MDA yang terdeteksi pada tes ini berarti bahwa sama dengan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Josephly, 1997). Selain TBA, beberapa metode lain telah dikembangkan seperti kromatografi gas-spektrofotometri massa (GC-MS/MS) dan kromatografi cair-spektrofotometri massa (LC-MS/MS) sedang dikembangkan selama decade terakhir (Giera *et al.*, 2012).

## **2.5 *Superoxide dismutase***

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan oksidan berbahaya dalam tubuh. Antioksidan akan menghambat reaksi oksidasi sehingga dapat mencegah terbentuk radikal bebas. Antioksidan akan melindungi sel-sel dan jaringan-jaringan dari kerusakan. Antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan endogen yang berasal dari dalam tubuh dan antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh (Murray dkk., 2000).

*Superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT) dan *glutathione peroxidase* (GPx) merupakan enzim antioksidan yang berperan sebagai perlindungan tubuh dalam melawan radikal bebas. *Superoxide radical* ( $O_2^-$ ) yang dihasilkan oleh jaringan melalui metabolisme dalam sel akan diubah menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) oleh SOD.  $H_2O_2$  akan bersifat racun jika terakumulasi terlalu banyak dalam sel.  $H_2O_2$  dapat diubah menjadi radikal hidroksil (OH) melalui reaksi fenton. Reaksi ini dapat dicegah dengan adanya CAT yang melimpah di peroksisom dan mampu

memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . CAT tidak ada di mitokondria, sehingga reaksi memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  pada mitokondria dilakukan oleh GPx (Ighodaroo & Akinloye, 2018).

SOD merupakan antioksidan utama dan terkuat dalam sel. Enzim ini mengurangi anion superoksida yang sangat berbahaya bagi sel. SOD merupakan jenis metaloenzim sehingga membutuhkan logam kofaktor. Ion logam yang biasa terikat dengan SOD adalah besi (Fe), seng (Zn), tembaga (Cu) dan mangan (Mn). Berdasarkan hal ini, maka SOD dibagi menjadi tiga yaitu, (i) Fe-SOD yang sering kali ditemukan pada prokariot dan pada kloroplas di beberapa tanaman, (ii) Mn-SOD yang dapat ditemukan pada prokariota dan pada mitokondria di eukariota, dan (iii) Cu/Zn-SOD yang ditemukan dominan pada sitosol di eukariota serta dapat ditemukan pula pada kloroplas dan peroksisom (Dringen *et al.*, 2005).

## **2.6 SOD dan MDA Hepar pada Diabetes Melitus**

Hepar merupakan organ vital yang memiliki fungsi sebagai detoksifikasi tubuh. Hepatosit, sel Kupffer dan sel endotel sinusoidal berperan dalam pertahanan tubuh melalui pengaturan jaringan intrahepatik untuk merespon berbagai sinyal stres dari tubuh (Kireev *et al.*, 2010). STZ merupakan salah satu zat toksik yang dapat menyebabkan kerusakan hepar dengan cara menaikkan ROS sehingga terjadi kondisi stres oksidatif (Zhang *et al.*, 2008).

Diabetes melitus sering kali diikuti oleh kondisi stres oksidatif yang diakibatkan karena peningkatan radikal bebas yang tidak terkontrol. Diabetes melitus meningkatkan stres oksidatif di banyak organ, terutama pada hepar. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan level MDA pada

hepar. Peningkatan MDA hepar pada diabetes melitus menunjukkan bahwa hiperglikemia menginduksi terjadinya peroksidasi lipid (Yilmaz *et al.*, 2004).

Berbanding terbalik dengan kadar MDA hepar, kadar SOD hepar pada diabetes melitus menunjukkan penurunan (Yilmaz *et al.*, 2004). STZ yang diinsuksikan pada tikus menunjukkan dapat menghambat aktivitas Cu/Zn-SOD yang pada akhirnya mengakibatkan berkurangnya kadar SOD pada hepar (Loven *et al.*, 1986). Berkurangnya SOD dan CAT di hepar dan pankreas selama diabetes melitus dapat menghasilkan kerusakan organ yang diakibatkan meningkatnya akumulasi radikal superoksida dan hidrogen peroksida (Chis *et al.*, 2009).

Stres oksidatif akan berbahaya bagi mitokondria hepar karena dapat menyebabkan kerusakan yang menghasilkan ekspresi gen yang tidak berpasangan. Stres oksidatif di hati akan diawali dengan aktivasi CYP2E1. Aktivasi dari *2E1 isoform of cytochrome P450* (CYP2E1) yang akan menyebabkan peningkatan pengeluaran ROS yang akan menyebabkan kematian sel (Lach & Michalak, 2014).

## **2.7 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)**

Jiintan hitam yang memiliki nama ilmiah *Nigella sativa* memiliki kalsifikasi sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Tracheophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Ranunculales

Famili: Ranunculaceae

Genus: *Nigella*

Spesies: *Nigella sativa* L. (Paarakh, 2010).

*Nigella sativa* yang dikenal dengan nama local jintan hitam merupakan anggota dari *family* Ranunculaceae. *Nigella sativa* disebut sebagai obat ajaib yang dianggap mampu menjadi penawar dari segala macam penyakit (Yessuf, 2015). Jintan hitam merupakan tumbuhan yang kaya akan manfaat. Biji jintan hitam berwarna hitam pekat, sehingga sering dikenal dengan sebutan “Habba Al-Sauda”. Jintan hitam merupakan jenis tumbuhan semak kecil. Jintan hitam memiliki daun berwarna hijau dengan bentuk yang meruncing. Jintan hitam memiliki bunga yang berwarna keunguan. Akar dari jintan hitam berwarna cokelat dan merupakan jenis akar tunggang (Paarakh, 2010).



**Gambar 2.1. Biji Jintan Hitam (Paarakh, 2010).**

Biji jintan hitam memiliki banyak senyawa aktif yang juga memiliki banyak sekali manfaat. Banyak komponen aktif seperti timokuinon, timol, nigellidine, timohidrokuinon dan alpha haderin telah diisolasi dari biji jintan hitam. Manfaat yang ditawarkan oleh jintan hitam juga beranekaragam. Banyak penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa biji jintan hitam dapat bersifat sebagai antioksidan, antihipertensi, antimikroba, antiparasit, antiinflamasi dan hipoglikemik. Diantara

sekian banyaknya senyawa aktif pada jintan hitam, timoquinon merupakan senyawa aktif yang banyak dipelajari dan digunakan (Aljabre *et al.*, 2019).

**Tabel 2.7. Senyawa aktif *Nigella sativa***

No	Komposisi	Presentase (%)
1.	n-Nonana	1.7
2.	3-Metil nonana	0.3
3.	1,3,5-Trimetil benzana	0.5
4.	n-Decana	0.4
5.	1-Metil-3-propil benzena	0.5
6.	1-Etil-2,3-dimetil benzena	0.2
7.	n-Tetradecana	0.2
8.	n-Heksadecana	0.2
	<i>Non terpenoid hidrokarbon</i>	4.0
9.	$\alpha$ -Tujen	2.4
10.	$\alpha$ -Pinen	1.2
11.	Sabinen	1.4
12.	$\beta$ - Pinen	1.3
13.	Mircene	0.4
14.	$\alpha$ -Phelandren	0.6
15.	p-Cimen	14.8
16.	Limonen	4.3
17.	$\gamma$ -Terpinen	0.5
	<i>Mono terpenoid hidrokarbon</i>	26.9
18.	Fenchon	1.1
19.	Dihidrocarvon	0.3
20.	Carvon	4.0
21.	Timoquinon	0.6
	<i>Monoterpenoid keton</i>	6.0
22.	Terpinen	0.7
23.	p-Cimen	0.4
24.	Carvacrol	1.6
	<i>Monoterpenoid alkohol</i>	2.7
25.	$\alpha$ -Longipinen	0.3
26.	Longifolen	0.7
	<i>Sesquiterpenoid hidrokarbon</i>	1.0
27.	Anisaldehyd	1.9
28.	Miristicin	1.7
29.	trans-Anethol	38.3
30.	Estragol	1.4
31.	Dill apiol	1.8
32.	Apiol	1.0
	<i>Fenil propanoid</i>	46.1
	<b>Total senyawa aktif</b>	<b>86.7</b>

(Nickavar *et al.*, 2003)

Biji *Nigella sativa* sering digunakan sebagai obat herbal untuk penyakit diabetes. Banyak penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak biji jintan hitam

terbukti bersifat antidiabetik pada hewan coba yang diinduksi (Kaleem *et al.*, 2006). Biji jintan hitam dapat mengontrol kondisi hiperglikemia tanpa mengganggu insulin pada plasma atau penyerapan glukosa di usus halus. Selain itu, biji jintan hitam juga bersifat sebagai antioksidan yang mampu membantu tubuh dalam menangkal radikal bebas. Selain mampu menurunkan glukosa darah, biji jintan hitam juga mampu menurunkan kolesterol dan trigliserida (Le *et al.*, 2004).

## 2.8 Klabet

Tumbuhan klabet dengan nama ilmiah *Trigonella foenum-graecum* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Tracheophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Fabales

Famili: Fabaceae

Genus: *Trigonella*

Spesies: *Trigonella foenum-graecum* (IT IS, 2021)

Klabet dengan nama ilmiah *Trigonella foenum-graecum* L. merupakan tanaman obat tradisional yang termasuk dalam polong-polongan. Klabet merupakan salah satu tanaman tahunan yang memiliki tinggi dengan kisaran 20-60 cm. Morfolgi daunnya adalah berbentuk bundar telur terbalik. Bunga yang dimiliki adalah bunga tunggal atau sepasang yang muncul di ketiak daun dengan mahkota bunga yang berwarna kuning. Buah dari klabet ialah berbentuk polong dan berisi 10-20 biji (Wharf & Kingdom, 2010). Biji klabet berwarna coklat ketika sudah

matang dan berwarna hijau saat masih muda. Biji klabet memiliki tekstur yang keras namun memiliki aroma yang khas (Patil & Jain, 2014).

Biji klabet dibuktikan dapat bersifat sebagai antioksidan. Efek antioksidan dari klabet dapat dilihat dari aktivitas penangkal radikal bebas yang efektif. Radikal bebas dalam tubuh manusia dihasilkan dalam metabolisme yang normal. Namun jika terjadi kelainan ataupun gangguan dalam suatu metabolisme, maka radikal bebas yang dihasilkan dapat melebihi kapasitas normal. Radikal bebas yang diproduksi secara berlebihan akan menghambat kerja berbagai macam enzim. Kejadian ini mengakibatkan beberapa biomolekul penting tubuh seperti protein, lipid, asam amino dan DNA mengalami oksidasi dan berujung pada kerusakan hingga kematian sel (Akbari *et al.*, 2019).



**Gambar 2.2. Tumbuhan Klabet dan Bijinya (Bahmani *et al.*, 2016)**

Beberapa penelitian yang dilakukan untuk mengetahui manfaat *Trigonella foenum-graecum* L. telah membuktikan bahwa biji klabet dapat mengurangi kadar radikal bebas yang disebabkan oleh induksi aloksan. Senyawa aktif dalam biji klabet seperti flavonoid, fenol, vitamin C, fosfolipid, serat, glikolipid, saponin,

trigonin, steroid, diosgenin, asam oleat memiliki banyak manfaat penting. Biji klabet dapat membantu menurunkan gula darah dengan memperlambat penyerapan karbohidrat dan mengurangi gastrointestinal penyerapan glukosa. Hal ini dikarenakan biji klabet mengandung banyak serat (Swaroop *et al.*, 2018). Senyawa bioaktif utama pada tumbuhan klabet adalah quercetin, 4-hidroxyisoleucine, galactomannan, coumarine, diosgenin, isovitexin, tigogenin, vitexin, trigonelin dan yamogennine (Hilles & Mahmood, 2016).

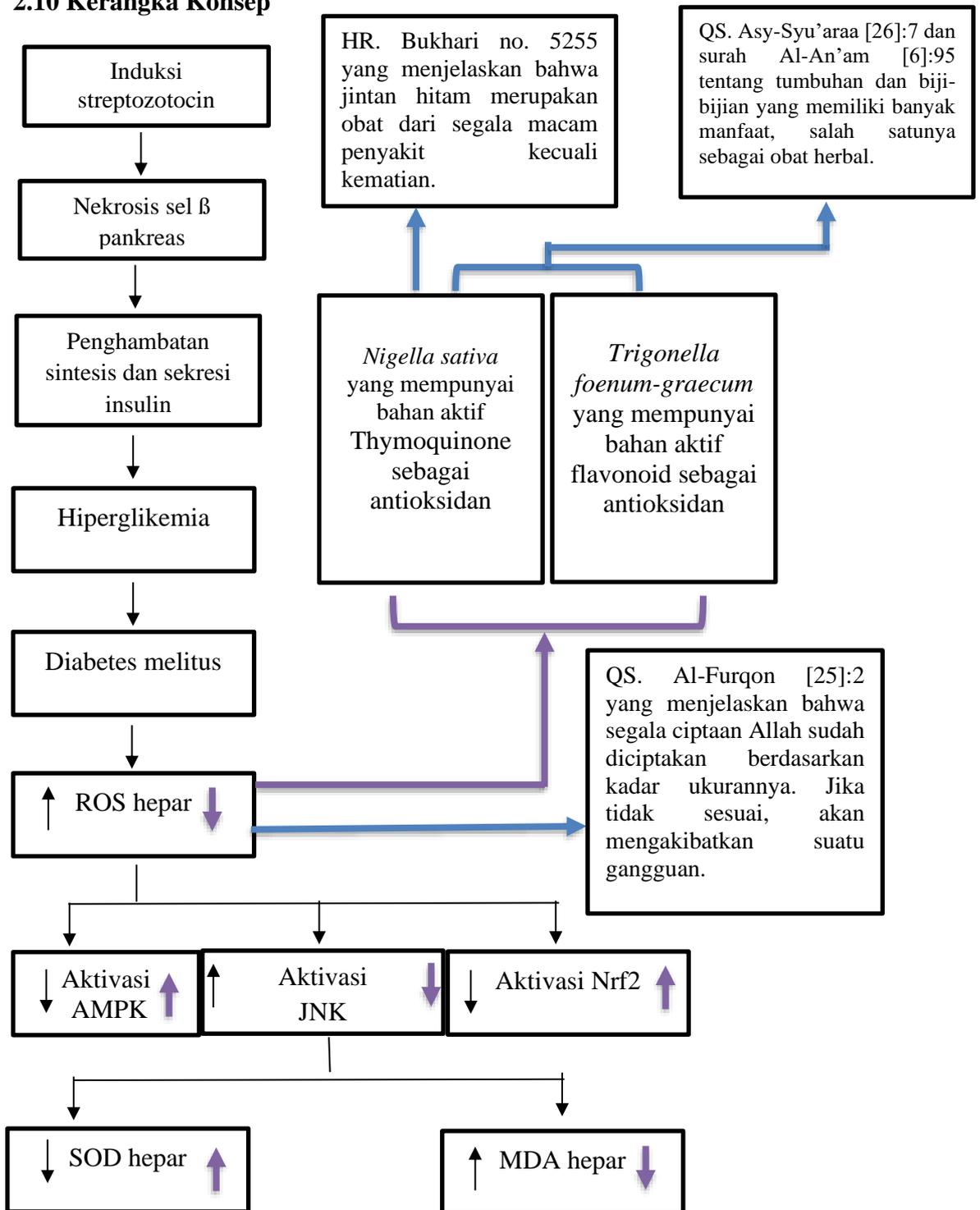
## **2.9 Hubungan Jintan Hitam dan Klabet terhadap SOD dan MDA Hepar**

Ekstrak biji jintan hitam memiliki komponen utama yang sudah sering diteliti, yaitu *thymoquinone*. *Thymoquinone* akan meningkatkan aktivitas Nrf2 (*Nuclear factor-erythroid-2 Related Factor 2*) yang merupakan faktor transkripsi berbagai antioksidan endogen dan enzim-enzim detoksifikasi (Susilowati dkk., 2019). Selain itu, *thymoquinone* juga dapat menetralkan radikal bebas dengan cara menurunkan kadar glukosa darah sehingga akan meningkatkan aktivitas AMPK dan menghambat glukoneogenesis di hepar. Akibatnya, produksi ROS juga akan ikut berkurang (Meral *et al.*, 2001).

Ekstrak biji klabet yang diekstrak dengan metanol, etanol, diklorometana, aseton, heksana dan etil asetat memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas. Biji klabet dapat memberikan perlindungan terhadap peroksidasi lipid dan membantu antioksidan enzimatis. Hal ini dikarenakan klabet memiliki kandungan polifenol yang tinggi (Wani & Pradyuman, 2015). Kandungan fenolik dan flavonoid yang tinggi pada ekstrak biji klabet yang bertanggung jawab untuk mereduksi radikal bebas dan mencegah terbentuknya MDA (Subashini dkk., 2011).

Ekstrak biji klabet memiliki efek positif terhadap regulasi enzim hepar. Kadar SOD yang meningkat membuktikan bahwa biji klabet memiliki potensi sebagai hepatoproteksi dan antioksidan. Aktivitas antioksidan pada biji klabet berkisar antara 32-73.89%. Flavonoid yang terdapat pada biji klabet dilaporkan mampu mengurangi akumulasi ROS intraseluler dengan cara menstabilkan elektronnya (Tewati *et al.*, 2020).

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2.3. Kerangka konsep penelitian

Keterangan gambar:

- ↑ : Kadar meningkat (sebelum *treatment*)
- ↓ : Kadar menurun (sebelum *treatment*)
- ↑ (purple) : Kadar meningkat (setelah *treatment*)
- ↓ (purple) : Kadar menurun (setelah *treatment*)
- (blue) : Integrasi Al-Qur'an

Induksi streptozotocin pada hewan coba dapat mengakibatkan kondisi hiperglikemia (Szkudelski, 2001). Kondisi ini diakibatkan karena terjadi nekrosis pada sel-sel  $\beta$  pankreas (Richa *et al.*, 2017).. Nekrosis sel-sel  $\beta$  pankreas akan menghambat sekresi dan sintesis hormon insulin sebagai pengatur glukosa darah pada tubuh. Ketika glukosa darah tidak terkontrol, maka akan terjadi kondisi hiperglikemia yaitu tingginya kadar glukosa darah dalam tubuh. Hiperglikemia merupakan ciri utama penderita diabetes melitus (Muhammad *et al.*, 2016). ROS dalam tubuh akan meningkat, terutama pada organ hepar (Yilmaz *et al.*, 2004). Hal ini menyebabkan turunnya aktivasi AMPK dan Nrf2 (Niture *et al.*, 2009) serta naiknya aktivasi JNK sehingga SOD hepar akan menurun sedangkan MDA hepar akan meningkat (Bare, dkk., 2020). Terapi menggunakan ekstrak ethanol biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* diharapkan mampu menurunkan ROS pada hepar sehingga dapat meningkatkan aktivasi AMPK dan Nrf2 serta menurunkan aktivasi JNK. Kondisi seperti ini akan membuat SOD hepar meningkat dan MDA hepar menurun sehingga tidak terjadi kondisi stres oksidatif.(Andaloussi *et al.*, 2011).

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap atau biasa disebut RAL. Pada penelitian ini digunakan 5 perlakuan dan 5 kali ulangan. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap kadar SOD (*Superoxide dismutase*) dan MDA (*Malondialdehyde*) hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin.

### **3.2 Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini, yaitu:

#### **1. Variabel Bebas**

Perlakuan kombinasi ekstrak etanol 70% jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) digunakan sebagai variabel bebas.

#### **2. Variabel Terikat**

Kadar *Superoxide dismutase* (SOD) dan *Malondialdehyde* (MDA) hepar mencit (*Mus musculus*) merupakan variabel terikat dari penelitian ini.

#### **3. Variabel Kontrol**

Variabel kontrol yang digunakan, yaitu:

- a. Hewan model pada penelitian ini adalah mencit dengan nama latin *Mus musculus* yang memiliki usia 12 minggu. Jenis kelamin mencit yang digunakan adalah jantan dan memiliki berat badan yang berkisar antara 30-40 g.

- b. Hewan model dilakukan aklimatisasi (fase adaptasi hewan coba dengan lingkungan baru). Aklimatisasi dilakukan selama 2 minggu. Pada masa aklimatisasi, mencit diberi pakan BR-1 serta air *ad-libitum*.
- c. Ketika proses aklimatisasi selesai, hewan model (kecuali kontrol) diberi pakan BR-2 dan air *ad-libitum*.

### 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium ini dilaksanakan pada bulan Juni hingga September 2021. Tempat dilakukannya penelitian ini adalah di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Kandang Hewan Coba, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Hewan model pada penelitian ini adalah mencit dengan nama latin *Mus musculus* yang memiliki usia 12 minggu. Jenis kelamin mencit yang digunakan adalah jantan dan memiliki berat badan yang berkisar antara 30-40 g sebanyak 30 ekor, dengan rincian sebagai berikut:

1. N (Normal): Hewan coba normal tidak diberikan perlakuan apapun (tidak diinduksi streptozotocin dan tidak diberi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum*
2. K- (Kontrol Negatif): Hewan coba kontrol negatif merupakan hewan coba yang diinduksi streptozotocin, namun tidak diberi perlakuan pemberian ekstrak etanol 70% (*Nigella sativa* L.) dan klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) selama 35 hari.

3. K+ (Kontrol Positif): Hewan coba kontrol positif merupakan hewan coba yang diinduksi streptozotocin dan *treatment* yang diberikan adalah obat sintetik metformin dengan dosis 65 mg/kg BB selama 35 hari.
4. P1 (Perlakuan 1): Hewan coba pada perlakuan 1 merupakan hewan coba yang diinduksi streptozotocin dan *treatment* yang diberikan adalah ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dengan dosis 200 mg/kg BB
5. P2 (Perlakuan 2): Hewan coba pada perlakuan 2 merupakan hewan coba yang diinduksi streptozotocin dan *treatment* yang diberikan adalah ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dengan dosis yang diberikan adalah 100 mg/kg BB dan *Trigonella foenum-graecum* dengan dosis yang diberikan adalah 50 mg/kg BB.
6. P3 (Perlakuan 3): Hewan coba pada perlakuan 3 merupakan hewan coba yang diinduksi streptozotocin dan *treatment* yang diberikan adalah ekstrak etanol 70% biji *Trigonella foenum-graecum* dengan dosis yang diberikan adalah 100 mg/kg BB.

### **3.5 Alat dan Bahan**

#### **3.5.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian eksperimental ini adalah bak plastik dengan lebar 15 cm, panjang 26,5 cm, dan tinggi 11 cm sehingga volume yang dihasilkan adalah 4.372,5 cm<sup>3</sup>. Bak plastik ini digunakan untuk kandang hewan coba, penutup kandang yang terbuat dari kawat untuk meminimalisir mencit keluar kandang. Alat-alat lain yang digunakan yakni botol minum plastik kecil khusus mencit, wadah plastik kecil untuk tempat makan, sapu kecil untuk membersihkan kandang, timbangan analitik, glukotest *EasyTouch*, glukotest strip *EasyTouch*, gunting bedah, spuit ukuran 1 cc, *gavage* untuk menyonde ekstrak yang

akan diberikan, papan dan perlengkapan bedah, *beaker glass*, *erlenmeyer*, gelas ukur, spektrofotometer uv-vis, , *micropipette*, tube 15 ml.

### **3.5.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian eksperimental ini adalah hewan coba mencit (*Mus musculus*) dengan umur 12 minggu dan memiliki jenis kelamin jantan serta memiliki berat badan yang berkisar antara 30-40 gram, streptozotocin merk *santa cruz*, buffer sitrat 0,1 M pH 4,5, pakan BR-1 dan BR-2, air *ad-libitum*, larutan PBS 10 mM dengan pH 7.4, ekstrak etanol 70% *Trigonella foenum-graecum* L. dan *Nigella sativa* L. yang didapat dari Materia Medica Batu, metformin, alkohol, Na-CMC, aquades, larutan xanthin, larutan sitokrom c, xanthin oksidase, TCA dan Na-Thio 1%.

## **3.6 Prosedur Kegiatan**

### **3.6.1 Persiapan**

#### **3.6.1.1 Pembuatan Larutan Streptozotocin**

Streptozotocin yang digunakan dalam penelitian eksperimental ini memiliki dua macam dosis, yaitu dosis 45 mg/kg BB dan dosis 60 mg/kg BB. Setelah dilakukan perhitungan, streptozotocin yang dibutuhkan untuk dosis 45 mg/kg BB adalah sebanyak 60 mg dan dilarutkan menggunakan larutan buffer sitrat. Sedangkan streptozotocin yang dibutuhkan untuk pada dosis 60 mg/kg BB adalah 80 mg dan dilarutkan menggunakan buffer sitrat. Ketika streptozotocin dan buffer sitrat telah dilarutkan, maka dihomogenkan menggunakan vortex dengan tujuan supaya streptozotocin dapat larut dengan sempurna. Jika sudah ditemukan butiran

halus streptozotocin mengendap atau melayang didalam buffer sitrat, maka streptozotocin sudah larut dengan sempurna.

### **3.6.1.2 Pembuatan Sediaan Uji**

Pembuatan ekstrak jintan hitam dan klabet dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan untuk menarik senyawa aktif pada kedua biji tanaman tersebut adalah alkohol 70%. Sebanyak 500 gram biji jintan hitam dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk tersebut kemudian akan direndam menggunakan 1,5 liter etanol 70% yang dilakukan selama 1x72 jam. Setelah dilakukan perendaman, ekstrak yang diperoleh akan dipekatkan menggunakan alat yaitu *rotary evaporator* dengan suhu yang diatur menjadi 40 °C. Proses pemekatan membutuhkan waktu 1 jam. Hasil dari pemekatan yang dilakukan, diperoleh ekstrak etanol 70% biji jintan hitam sebanyak 90 ml.

Sama halnya dengan biji jintan hitam, biji klabet sebanyak 500 g dijadikan serbuk dan dilakukan perendaman dengan 1,5 liter etanol 70% yang dilakukan selama 1x72 jam. Setelah proses perendaman selesai, dilakukan pemekatan yang menggunakan *rotary evaporator*. Suhu yang digunakan adalah 40 °C selama 1 jam hingga etanol 70% telah meguap sepenuhnya. Hasil ekstrak etanol 70% biji klabet yang didapatkan adalah 100 ml.

### **3.6.1.3 Pemeliharaan Mencit**

Hewan model ditempatkan dalam bak plastik yang telah disediakan sebagai kandang dan ditutup dengan kawat besi. Setiap bak plastik hanya diisi 1 ekor mencit. Alas yang digunakan dalam kandang hewan model adalah sekam yang diganti setiap 2 hari sekali untuk meminimalisir tumbuhnya kutu ataupun jamur yang tidak diinginkan. Sebelum dilakukan injeksi dan perlakuan, hewan model

akan diaklimatisasi selama 14 hari. Selama masa aklimatisasi, mencit diberi pakan BR-1 dan air minum yang digunakan adalah air minum *ad-libitum*. Setelah aklimatisasi selesai, hewan model sudah bisa dilakukan induksi streptozotocin dan perlakuan. Suhu ruang dalam pemeliharaan mencit ini adalah 22-25 °C yang menggunakan siklus gelap terang 12/12.

### **3.6.2 Pelaksanaan**

#### **3.6.2.1 Pembuatan Hewan Model Diabetes Melitus Tipe 2**

Semua hewan model setelah masa aklimatisasi selesai dilakukan pengecekan kadar glukosa darah dan berat badan. Hewan model yang memenuhi syarat (kecuali normal) diinduksi streptozotocin dosis 45 mg/kg BB yang dilakukan selama 3 hari berturut-turut dan dilakukan pada waktu yang sama. Setelah induksi hari ketiga dan jeda 1 hari, dilakukan induksi streptozotocin kembali dengan dosis 60 mg/kg BB selama 2 hari namun dengan selang 1 hari.

Induksi dilakukan secara intraperitoneal. Hewan coba dipegang dan dihadapkan ke arah atas hingga terlihat bagian abdomennya. Bagian abdomen tersebut diusap menggunakan alkohol swab. Jarum suntik yang telah berisi streptozotocin disuntikkan ke bagian abdomen hingga streptozotocin masuk secara menyeluruh ke bagian abdomen.

Kadar glukosa darah dan berat badan pada mencit dilakukan pengecekan pada hari ke 14 dan hari ke 28 pasca induksi. Kadar glukosa darah diukur menggunakan alat glucometer. Pengambilan darah dilakukan melalui ekor. Ujung ekor mencit digunting menggunakan gunting bedah yang tajam, lalu ditekan bagian pangkal ekor hingga ujung ekor supaya darah bisa keluar. Darah yang keluar di ujung ekor diletakkan pada *test strip* hingga terpenuhi. Pengukuran kadar glukosa darah akan

terbaca setelah 10 detik. Mencit yang memiliki glukosa darah  $>200$  mg/dl dinyatakan sudah mengalami diabetes melitus. Sedangkan untuk berat badan dapat ditimbang menggunakan neraca analitik. Mencit dengan berat badan yang berkisar adalah 30-40 g dan memiliki kadar glukosa darah  $>200$  mg/dl dapat digunakan sebagai hewan model dan dilanjutkan dengan perlakuan yang telah disiapkan.

### **3.6.2.2 Pembuatan Larutan Na-CMC 0.5%**

Konsentrasi Larutan Na-CMC yang digunakan memiliki konsentrasi 0.5%. Pembuatan Na-CMC 0.5% dilakukan dengan melarutkan 500 gram Na-CMC ke dalam aquades paas sebanyak 10 ml. Dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan spatula, setelah homogen maka ditambahkan aquades biasa hingga volumenya mencapai 100 ml dan dihomogenkan hingga tidak ada bulir yang mengendap.

### **3.6.2.3 Penentuan Dosis Metformin**

Pemberian dosis metformin standart yang digunakan untuk manusia adalah 500mg/kg BB. Sehingga untuk mencit, didapat dosis metformin yang sesuai adalah 65 mg/kg BB.

## **3.6.3 Pengambilan Data**

### **3.6.3.1 Pembuatan Lisat Hepar**

Mencit yang telah selesai diberi perlakuan, dilakukan pembedahan pada hari ke-36. Organ yang diambil adalah organ hepar. Organ hepar dipotong menjadi bagian kecil. Hepar dengan berat 0.5 g dihaluskan menggunakan mortar dan alu steril. Penghalusan dilakukan diatas blok es. Ketika hepar telah halus, maka ditambahkan 4,5 PBS (10 mM, pH 7,4). Selanjutnya dimasukkan ke tabung

Eppendorf 15 ml. Homogenat tersebut disentrifugasi dalam waktu 20 menit dengan kecepatan 5000 rpm.

### **3.6.3.2 Pengukuran Kadar SOD**

Homogenat yang telah disentrifugasi diambil sekitar 150  $\mu$ l. Homogenat tersebut dicampur dengan ethanol dingin 400  $\mu$ l. Campuran homogenat dan ethanol divorteks dalam waktu 3 detik. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 4.400 rpm dengan suhu 10 °C. Ketika sentrifugasi selesai ditambahkan larutan xanthin dan sitokrom c. Campuran tersebut divorteks kembali secara perlahan. Langkah terakhir adalah penambahan 50  $\mu$ l larutan xantin oksidase dan divorteks kembali secara perlahan. Pengamatan aktivitas SOD dilakukan menggunakan spektrofotometer (Suasarna dkk., 2013).

### **3.6.3.3 Pengukuran Kadar MDA**

#### **3.6.3.3.1 Pembuatan Kurva Standar**

Konsentrasi pada larutan standar kit MDA berbeda-beda, yaitu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8  $\mu$ g/ml. Setiap konsentrasi diambil 100  $\mu$ l dan dimasukkan ke *microtube* yang berbeda. Setiap *microtube* ditambahkan 100  $\mu$ l TCA 10%, 550  $\mu$ l aquades, 100  $\mu$ l Na-Thio 1% dan 250  $\mu$ l HCl 1 N. Setelah itu disentrifus pada kecepatan 500 rpm sekitar 10 menit. Kemudian bagian supernatan diambil dan dimasukkan dalam *water bath* pada suhu 100 °C sekitar 30 menit. Kemudian didiamkan di suhu ruang dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal 530 nm. Hasil dari absorbansi tersebut yang akan dijadikan kurva standar MDA (Aulanni'am dkk., 2011).

### 3.6.3.3.2 Pengukuran Kadar MDA

Supernatan hepar juga dapat digunakan untuk uji TBA. Diambil sekitar 100  $\mu$ l supernatant. Kemudian supernatant tersebut dimasukkan pada tabung Eppendorf. Ditambah 550  $\mu$ l aquades, 100  $\mu$ l TCA 10%, 250  $\mu$ l HCl 1N dan 100  $\mu$ l Na-thio. Larutan tersebut dicampur hingga homogen yang kemudian disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm sekitar 30 menit. Supernatan didiamkan pada suhu ruang lalu diukur absorbansinya di panjang gelombang 530 nm. Absorbansi yang didapat digunakan pada persamaan regresi linear sehingga didapatkan kadar MDA (Aulanni'am dkk., 2011).

### 3.7 Analisis Data

Data yang didapatkan dari pengujian aktivitas SOD dan kadar MDA hepar mencit dianalisis menggunakan software SPSS 16.0. Uji *One Way Anova* digunakan apabila data yang diperoleh memenuhi syarat uji normalitas dan uji homogenitas. Namun jika data tidak memenuhi syarat parametrik tersebut, maka menggunakan uji *Kruskall-Wallis*. Apabila  $p < 0.01$  akan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan* untuk parametrik dan uji lanjut *Mann-Whitney* pada data nonparametrik dengan taraf signifikansi yang digunakan adalah 1%.

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **4.1 Hasil Penelitian**

Diabetes mellitus (DM) merupakan kelainan metabolisme karbohidrat yang disebabkan karena adanya kerusakan pada organ pankreas. DM juga disebabkan karena sel-sel tubuh tidak mampu merepon insulin sehingga glukosa tidak mampu masuk ke dalam sel dan terakumulasi di darah. Tingginya akumulasi glukosa dalam darah akan menyebabkan kondisi hiperglikemia. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Susanti, dkk (2015) yang menyatakan bahwa hiperglikemia dapat terjadi karena adanya kelainan pada sekresi atau gangguan pada kerja insulin.

Kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan banyak molekul ROS. Molekul-molekul ROS yang diproduksi berlebihan akan menekan produksi antioksidan. Ketika antioksidan yang dihasilkan sedikit, maka tidak mampu menetralkan ROS yang terus dihasilkan sehingga terjadi stres oksidatif. Organ utama yang sering diserang oleh ROS adalah hepar. Sel utama yang terkena stres oksidatif adalah sel parenkim hepar. Selain sel parenkim, juga ada sel-sel Kupffer, sel-sel *stellate* dan sel-sel endothelial hepar yang sensitif terhadap ROS (Cossarizza *et al.*, 2009).

Salah satu hasil oksidasi adalah *malondialdehyde* (MDA) yang merupakan hasil dari peroksidasi lipid. Sedangkan salah satu antioksidan utama tubuh adalah *superoxide dismutase* (SOD) yang mampu menetralkan oksidan dalam tubuh. Pengukuran kadar SOD dan MDA seringkali digunakan sebagai indikator keadaan stres oksidatif. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil dari pengukuran kadar SOD dan MDA hepar mencit setelah pemberian kombinasi ekstrak etanol

70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* dapat diuraikan sebagai berikut:

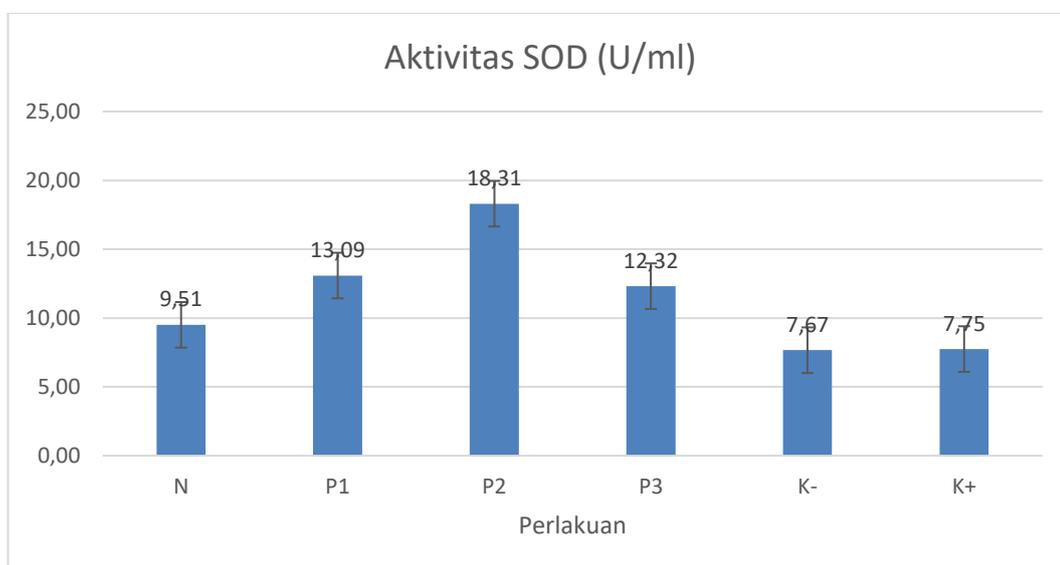
#### **4.1.1 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol 70% Biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap Kadar SOD Hepar *Mus musculus* yang diinduksi Streptozotocin**

Uji normalitas data rata-rata pengukuran kadar SOD hepar mencit dengan pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test* diperoleh signifikansi  $>0.01$  ( $0.459 > 0.01$ ). Hal ini menandakan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Homogenitas Lavene. Hasil menunjukkan signifikansi  $>0.05$  ( $0.081 > 0.01$ ). Hasil tersebut menunjukkan bahwa data telah homogen.

Data yang telah memenuhi uji normalitas dan homogenitas, maka dilanjutkan dengan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 1%. Hasil uji *ANOVA One-Way* menunjukkan nilai signifikansi  $<0.01$  ( $0.00 < 0.01$ ), maka hipotesa nol ( $H_0$ ) ditolak dan hipotesa satu ( $H_1$ ) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* dapat mempengaruhi kadar SOD pada hepar mencit yang diinduksi STZ secara sangat signifikan, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.1. Uji lanjut yang digunakan adalah uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar SOD hepar. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata ( $P > 0.01$ ) antar perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Hasil Uji Duncan Rata-Rata Kadar SOD Hepar Mencit**

Kelompok Perlakuan	N	RATA-RATA $\pm$ SD
K- (Kontrol Negatif)	5	7,67 $\pm$ 1,36 <sup>a</sup>
K+ (Kontrol Positif)	5	7,75 $\pm$ 0,91 <sup>a</sup>
N (Normal)	5	9,51 $\pm$ 1,28 <sup>a</sup>
P3 ( <i>Trigonella foenum graecum</i> )	5	12,32 $\pm$ 2,50 <sup>b</sup>
P1 ( <i>Nigella sativa</i> )	5	13,09 $\pm$ 0,69 <sup>b</sup>
P2 (Kombinasi <i>Nigella sativa</i> dan <i>Trigonella foenum-graecum</i> )	5	18,31 $\pm$ 0,48 <sup>c</sup>

**Gambar 4.1 Diagram rata-rata perubahan aktivitas SOD pada hepar mencit setelah pemberian terapi**

#### 4.1.2 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol 70% Biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* terhadap Kadar MDA Hepar Mencit *Mus musculus* yang diinduksi Streptozotocin

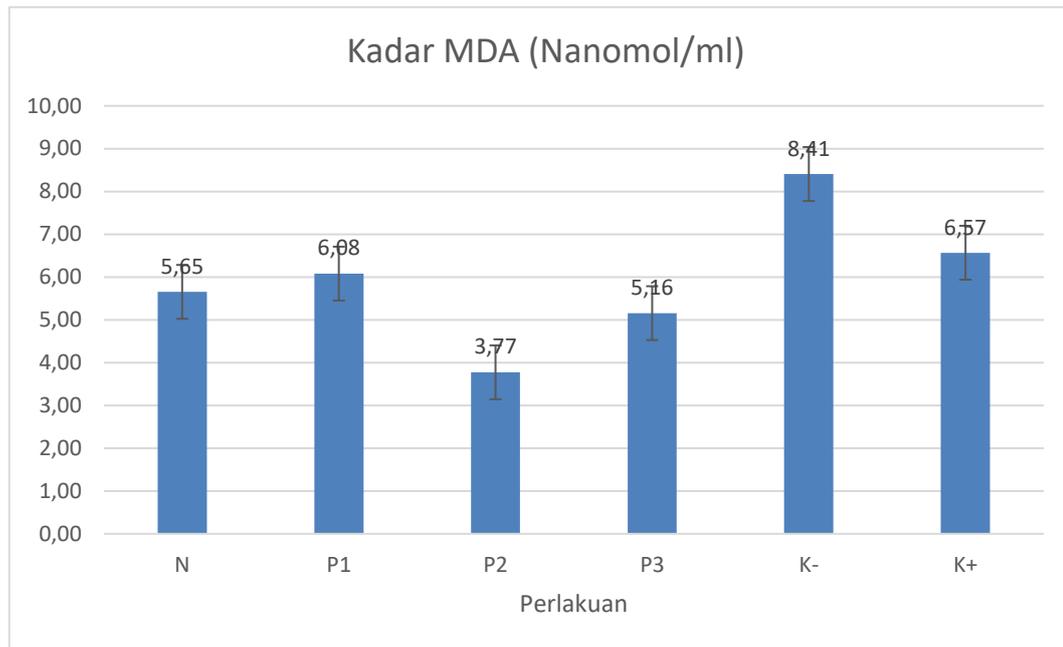
Uji normalitas data rata-rata pengukuran kadar MDA hepar mencit dengan pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* menggunakan Kolomogrov-Sminorv Test diperoleh signifikansi  $>0.01$

(0.713 > 0.01). Hal ini menandakan bahwa data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Homogenitas Lavene. Hasil menunjukkan signifikansi >0.01 (0.101 > 0.01). Hasil tersebut menunjukkan bahwa data telah homogen.

Data yang telah memenuhi uji normalitas dan homogenitas, maka dilanjutkan dengan uji ANOVA One-Way dengan taraf signifikansi 1%. Hasil uji ANOVA One-Way menunjukkan nilai signifikansi <0.01 (0.00 < 0.01), maka hipotesa nol (H<sub>0</sub>) ditolak dan hipotesa satu (H<sub>1</sub>) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol 70% biji *Nigella sativa* dan *Trigonella foenum-graecum* dapat mempengaruhi kadar MDA pada hepar mencit yang diinduksi STZ secara signifikan, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.2. Uji lanjut yang digunakan adalah uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar MDA hepar. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata ( $P > 0.01$ ) antar perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 4.2.

**Tabel 4.2 Hasil Uji Duncan Rata-Rata Kadar MDA Hepar Mencit**

Kelompok Perlakuan	N	Rata-Rata ± SD
P2 (Kombinasi <i>Nigella sativa</i> dan <i>Trigonella foenum-graecum</i> )	5	3,77±0,39 <sup>a</sup>
P3 ( <i>Trigonella foenum-graecum</i> )	5	5,16±0,58 <sup>b</sup>
N (Normal)	5	5,65±0,48 <sup>bc</sup>
P1 ( <i>Nigella sativa</i> )	5	6,08±0,27 <sup>bc</sup>
K+ (Kontrol Positif)	5	6,57±0,72 <sup>c</sup>
K- (Kontrol Negatif)	5	8,41±0,94 <sup>d</sup>



**Gambar 4.2 Diagram rata-rata perubahan aktivitas MDA pada hepar mencit setelah pemberian terapi**

#### 4.2 Pembahasan

*Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas selalu dihasilkan dari metabolisme secara umum. ROS memiliki banyak jenis, namun ada tiga jenis utama ROS yaitu superoksida ( $O_2^*$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan hidroksil radikal ( $OH^*$ ) (Birben *et al.*, 2012). Radikal bebas memiliki elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluar yang mengakibatkan radikal bebas mampu menarik elektron dari molekul di sekelilingnya dengan sangat reaktif. Akibatnya, molekul yang kehilangan elektron akan menjadi radikal yang baru dan dapat menyebabkan kerusakan, gangguan fungsi bahkan kematian sel (Simanjuntak & Zulham, 2020). Pada keadaan normal, elektron digunakan untuk mereduksi oksigen menjadi air pada proses transpor elektron di mitokondria, tetapi sekitar 1-3% dari keseluruhan elektron tersebut mengalami kebocoran sehingga terbentuk radikal bebas (Birben *et al.*, 2012).

Produksi ROS yang berkelanjutan harus diimbangi oleh aktivitas antioksidan sebagai penetral radikal bebas. Namun pada kasus diabetes melitus, hiperglikemia menyebabkan radikal bebas yang dihasilkan tidak terkontrol sehingga tidak mampu diimbangi oleh produksi antioksidan. Menurut Rolo & Carlos (2006) menunjukkan bahwa stres oksidatif menjadi kunci utama dalam perkembangan diabetes serta komplikasinya yang akan memperparah keadaan. Selain itu, Lemos *et al* (2012) menyatakan bahwa sumber utama penghasil ROS pada kasus diabetes melitus adalah (1) autooksidasi glukosa; (2) produksi ROS yang berlebih pada mitokondria; (3) glikasi non-enzimatik dan; (4) jalur poliol.

Radikal bebas yang dihasilkan tubuh disebut sebagai radikal bebas endogen. Senyawa radikal bebas yang dihasilkan berasal dari suatu proses yang terjadi dalam tubuh. Sedangkan radikal bebas yang berasal dari luar tubuh atau lingkungan sekitar disebut radikal bebas eksogen. Radikal bebas eksogen dapat menyebabkan tingkat radikal bebas dalam tubuh terus meningkat (Birben *et al.*, 2012).

Streptozotocin (STZ) merupakan salah satu agen diabetogenik yang dapat merusak pankreas dengan cara pembentukan radikal bebas yang berlebihan sehingga menciptakan kondisi stres oksidatif. Penelitian yang dilakukan oleh Husna, dkk. (2019) menyatakan bahwa STZ sangat bersifat toksik terhadap pankreas. Hal ini dapat terjadi karena STZ memiliki gugus glukosa dan masuk dalam sel melalui *glucose transporter-2* (GLUT-2). Sel  $\beta$  pankreas mengekspresikan GLUT-2 sehingga pankreas akan dengan mudahnya dimasuki oleh STZ. STZ akan merusak pankreas sehingga tidak mampu menghasilkan insulin. Akibatnya, terjadilah peningkatan kadar glukosa darah yang tidak terkontrol atau hiperglikemia.

Stres oksidatif selalu dikaitkan dengan penyakit-penyakit berbahaya, salah satunya adalah diabetes melitus. Pada kondisi diabetes melitus, stres oksidatif akan meningkat pesat karena terjadi hiperglikemia yang tidak terkontrol. Ketika radikal bebas meningkat, maka SOD juga akan meningkat dan bekerja untuk menetralkan radikal bebas tersebut. Namun, ketika radikal bebas terus meningkat dan tidak terkontrol, maka SOD juga akan mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena aktivasi SOD dihambat oleh radikal bebas (Rahmawati, dkk., 2014).

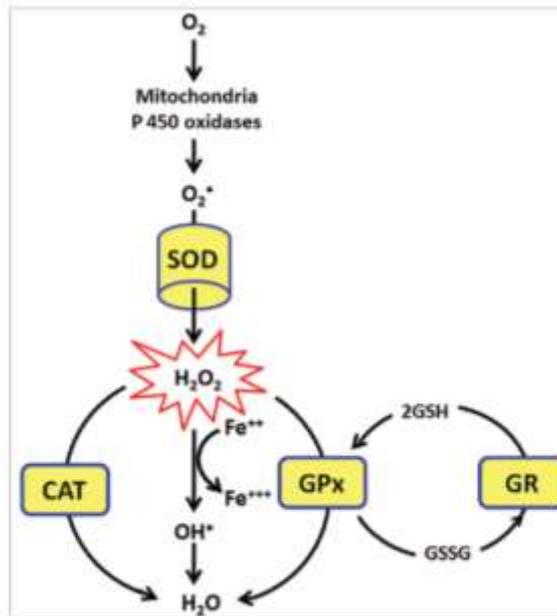
Hasil penelitian kadar SOD dan MDA hepar mencit yang diinduksi STZ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara kontrol negatif (K-) dan perlakuan 2 (P2) seperti yang terlihat pada tabel 4.1 dan tabel 4.2. Kondisi hiperglikemia menjadi salah satu penyebab terjadinya peningkatan stres oksidatif. Hiperglikemia yang merupakan salah satu ciri utama diabetes yang dapat disebabkan oleh kondisi autoimun, gangguan pada sekresi insulin, resistensi insulin dan juga dapat disebabkan karena adanya agen diabetogenik. Penelitian yang dilakukan oleh Mowla *et al* (2009) menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia yang tidak mendapatkan penanganan apapun dapat meningkatkan senyawa radikal lebih banyak dan menyebabkan kondisi stres oksidatif sangat tinggi dalam tubuh.

Organ pertama yang diserang oleh radikal bebas adalah hepar. Sel-sel pada hepar seperti sel endotel, sel kuppfer dan sel stellate adalah sel-sel yang sangat sensitif terhadap stres oksidatif. Stres oksidatif juga akan membahayakan mitokondria hepar. Hal ini dikarenakan mitokondria hepar dapat membentuk ekspresi gen yang tidak berpasangan. Stres oksidatif pada hepar dimulai dengan adanya aktivasi CYP2E1 yang dapat menghasilkan ROS, terutama superoksida dan radikal hidroksil (Lach dan Michalak, 2014).

Antioksidan dalam tubuh memiliki dua mekanisme kerja, yaitu sebagai antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer bekerja dengan cara memberi atom hidrogen pada radikal lipida atau dapat pula dengan mengubah radikal menjadi bentuk yang lebih stabil. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara memperlambat reaksi autooksidasi dengan mekanisme pemutusan rantai oksidasi (Gordon, 1990).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar SOD terendah ialah pada perlakuan (K-). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia yang tidak mendapatkan penanganan dapat menyebabkan produksi antioksidan terhambat sehingga tidak mampu mengimbangi oksidan. Menurut Griffin *et al.*, (2000), ROS yang semakin meningkat akan mempengaruhi produksi dari antioksidan dalam tubuh. ROS yang semakin meningkat terjadi karena ekspresi mRNA dari NADPH oksidase yang merupakan enzim penghasil ROS serta menghambat ekspresi dari antioksidan enzimatik tubuh.

*Superoxide Dismutase* (SOD) adalah antioksidan utama yang melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. SOD akan merubah radikal bebas menjadi senyawa yang tidak berbahaya bagi tubuh. SOD dapat mengubah *superoxide* ( $O_2^-$ ) menjadi  $H_2O_2$ . Selanjutnya, SOD sering kali digunakan sebagai parameter antioksidan dalam tubuh. Ketika kadar SOD menurun dan tidak sebanding dengan radikal bebas yang ada pada tubuh, maka terjadilah stres oksidatif (Wresdiyati, dkk., 2006).



**Gambar 4.3. SOD, CAT dan GPx adalah antioksidan endogen utama dalam tubuh.** Antioksidan endogen tersebut mengais radikal superoksida dan hidrogen peroksida dan mengubahnya menjadi spesies yang tidak reaktif (Pandey & Syed, 2010).

Selain SOD, terdapat pula CAT dan GPx yang berperan dalam melawan antioksidan dalam tubuh. Enzim-enzim tersebut saling bekerja sama dalam mereduksi radikal bebas. Setelah superoksida dirubah menjadi hidrogen peroksida oleh SOD, maka tugas selanjutnya akan dilaksanakan oleh CAT dan GPx yang akan mereduksi molekul hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Hal ini mengakibatkan radikal bebas berubah menjadi molekul yang tidak berbahaya bagi tubuh (Pandey & Syed, 2010).

Kadar SOD antara normal (N), kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+) berdasarkan uji statistik tidak berbeda nyata. Namun jika dilihat dari hasil rata-rata SOD, kontrol negatif memiliki nilai SOD yang paling rendah. Kontrol positif menggunakan obat metformin. Menurut Zhou *et al* (2011) menyatakan bahwa metformin dapat meningkatkan kadar SOD dengan cara mengurangi oksidasi asam lemak di jaringan adiposa, mengaktivasi enzim adenosin monofosfat kinase

sehingga juga meningkatkan translokasi GLUT-4 di jaringan otot dan adiposa serta mengurangi glukoneogenesis di hati.

Metformin merupakan obat standar yang biasa dipakai untuk mengontrol kadar glukosa darah pada penderita diabetes melitus. Pada kasus diabetes melitus, metformin biasanya dikonsumsi dengan dosis minimal yaitu 500-2550 mg per hari. Pada penelitian ini, metformin belum bisa menurunkan kadar glukosa darah dibawah normal, sehingga kadar SOD juga belum bisa dinaikkan. Hal ini dapat terjadi karena kurangnya dosis yang digunakan. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian oleh Riwu, dkk (2015) yang menyatakan bahwa dosis terapi metformin umumnya bersifat individual dan dapat dimulai dahulu dengan dosis rendah 500 mg per hari yang kemudian ditingkatkan secara bertahap setelah 2-3 minggu dengan penambahan 500 mg per minggu atau 850 mg per dua minggu sampai kontrol gula darah tercapai atau tidak melebihi dosis maksimum 2.550 mg per hari.

Kadar SOD tertinggi ialah pada perlakuan 2 (P2) yaitu pemberian terapi kombinasi ekstrak etanol 70% biji jintan hitam dan klabet seperti yang tertera pada tabel 4.1. Hal ini juga dibuktikan dengan adanya perbedaan notasi dari perlakuan yang lain. Kadar SOD pada terapi pemberian ekstrak etanol 70% jintan hitam lebih baik daripada pemberian ekstrak etanol 70% klabet. Namun hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata diantara keduanya. Hal ini ditunjukkan dengan adanya notasi yang sama pada terapi menggunakan *Nigella sativa* (P1) dan terapi menggunakan *Trigonella foenum-graecum* (P3).

Peningkatan SOD pada terapi menggunakan kombinasi ekstrak etanol 70% biji jintan hitam dan klabet disebabkan adanya zat bioaktif pada kedua tanaman tersebut yang saling bekerja sinergis dalam melawan antioksidan. Sebuah penelitian

yang dilakukan oleh Muman, *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa komponen biologikal pada jintan hitam dan klabet memiliki hubungan yang sinergis, sehingga kombinasi keduanya saling mendukung bukan saling menghambat satu sama lain.

Kandungan senyawa yang terdapat pada jintan hitam dan berpotensi sebagai antioksidan adalah *thymoquinone*. *Thymoquinone* adalah komponen terbesar dalam *Nigella sativa* yang mempunyai efek antibakteri, analgesik, antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa ini merupakan penangkal radikal bebas. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Desai *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa *Nigella sativa* dapat menghambat peroksidasi lipid sehingga mengurangi MDA. Penelitian lain yang dilakukan oleh Susilowati, dkk., (2019) menunjukkan bahwa *thymoquinone* dapat mengurangi kadar MDA yang meningkat dan juga dapat meningkatkan kadar SOD, GSH dan katalase dalam keadaan yang normal. *Thymoquinone* dapat meningkatkan aktivasi Nrf2 kemudian akan ditranslokasi pada nukleus dan berikatan dengan *Antioxidant Respond Element* (ARE) sehingga mampu meningkatkan pula ekspresi dan translasi gen SOD.

Mekanisme peningkatan SOD dengan menggunakan terapi *Nigella sativa* sesuai dengan hadist Nabi Muhammad ﷺ dalam Hadist Riwayat Ibnu Majah no 3438 yang berbunyi sebagai berikut:

إِنَّ فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءً مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ وَالسَّامَ الْمَوْتُ وَالْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ الشُّونِيزُ

Artinya: "Sesungguhnya di dalam *habbatus sauda'* (jintan hitam) terdapat obat dari segala penyakit kecuali kematian. Yang dimaksud *as sam* ialah maut sedangkan *habbatus sauda'* ialah pohon syuniz." (HR. Ibnu Majah-3438)

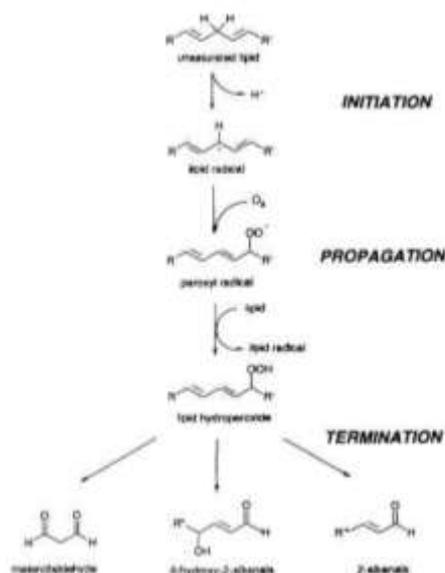
Hadist diatas menjelaskan bahwa "*habbatus sauda'*" atau jintan hitam merupakan obat dari segala macam penyakit. Nabi Muhammad ﷺ menjelaskan

bahwa *habbatus sauda'* merupakan salah satu obat yang memiliki manfaat besar bagi kesehatan (Safarsyah, 2018). Hal ini dikarenakan jintan hitam memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang sangat baik. Antioksidan ini dapat menyeimbangkan kadar radikal bebas (oksidan) yang terakumulasi dalam tubuh sehingga tidak terjadi keadaan stres oksidatif yang menjadi sumber dari segala penyakit termasuk diabetes melitus (Mozaffari *et al.*, 2000).

*Thymoquinone* juga dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus dengan diabetes melitus tipe 2. Ketika kondisi hiperglikemia terkontrol, maka akan meningkatkan aktivasi jalur AMPK. *Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase* (AMPK) dapat menurunkan proses glukoneogenesis di hati. Hal ini akan menyebabkan sintesis GLUT-4 meningkat. GLUT-4 merupakan transporter glukosa yang berada di otot dan dapat mengontrol kondisi hiperglikemia. Ketika kondisi hiperglikemia dapat tertangani dengan baik, maka akan memperbaiki pula kondisi stres oksidatif yang terjadi dan meningkatkan kadar SOD (Andaloussi, *et al.*, 2011).

Mekanisme terbentuknya MDA dimulai saat gugus radikal hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ) menggantikan atom hidrogen (H) pada molekul lipid tak jenuh rantai panjang. Proses ini menyebabkan lipid tersebut bersifat radikal. Radikal lipid selanjutnya bereaksi dengan atom oksigen ( $\text{O}_2$ ) dan menghasilkan radikal peroksil (Yustika dkk., 2013). Radikal peroksil merupakan spesies yang sangat reaktif. Komponen penting pada membrane sel terdiri dari fosfolipid dan glikolipid yang mengandung asam lemak tak jenuh dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka terhadap radikal peroksil. Selanjutnya radikal peroksil akan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh yang akan menghasilkan peroksidasi lipid. Kelanjutan dari reaksi

ini ialah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa aldehid yang memiliki toksisitas tinggi, yaitu 4-hidroksiasenaral, etana, pentana dan MDA (Yunus, 2001).



**Gambar 4.4. Mekanisme terbentuknya *Malondialdehyde* (MDA) (Yunus, 2001).**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MDA tertinggi ialah pada perlakuan (K-) yaitu mencit yang diinduksi streptozotocin tanpa perlakuan ekstrak etanol 70% biji jintan hitam dan klabet. Kadar MDA yang tinggi menunjukkan bahwa stres oksidatif yang terjadi juga tinggi. Hal ini dikarenakan pada K-, terjadi hiperglikemia dan tidak diberi terapi sehingga radikal bebas semakin tinggi sedangkan antioksidan tidak mampu mengimbangnya. Hal ini juga dijelaskan dalam penelitian Mowla *et al* (2009) yang menyatakan bahwa kondisi diabetes melitus yang tidak tertangani akan mengakibatkan stres oksidatif yang parah dan mengarah ke komplikasi lainnya.

Penurunan kadar MDA terjadi pada P2 yaitu pada perlakuan pemberian terapi ekstrak ethanol 70% biji jintan hitam dan klabet. Pernyataan ini sesuai pada tabel 4.2 yang menunjukkan bahwa P2 berbeda nyata dengan perlakuan yang lain dan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Hal ini mengindikasikan bahwa pada perlakuan tersebut efektif dalam menurunkan kadar MDA dan menaikkan kadar SOD.

Mekanisme menurunnya kadar *malondialdehyde* dan meningkatnya kadar *superoxide dismutase* pada penderita hiperglikemia yang diberi terapi biji jintan hitam dan klabet sesuai dengan firman Allah ﷻ dalam surah Al-An'am ayat 95 sebagaimana berikut:

﴿إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۖ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَالِقُ ۖ فَأَنَّى تُؤَفَّكُونَ﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?*” (Q.S Al-An'am [6]: 95).

Ayat ini menyampaikan bahwa Allah ﷻ Maha Sempurna, Maha Agung Kesempurnaan-Nya, kelauasan rahmat-Nya dan perhatian-Nya yang mendalam terhadap semua makhluk-Nya. Menurut Tafsir Jalalayn, Kata (إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ )

(وَالنَّوَىٰ) yang memiliki makna sesungguhnya Allah telah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan. Butir tumbuhan ini mencakup seluruh biji-bijian yang ditanam oleh manusia dan yang tidak ditanam oleh manusia seperti biji-bijian yang Allah tebarkan di tanah-tanah kosong. Biji-bijian itu tumbuh menjadi tanaman yang beraneka ragam dan memiliki fungsi yang beragam pula (Al-Mahally & As-

Suyuthy, 2016). Selain itu, menurut tafsir oleh Shihab (2002) menjelaskan bahwa ayat tersebut merupakan bukti kekuasaan Allah tentang penciptaan biji, Biji-bijian tersebut tidak hanya sebagai cikal bakal tumbuhan baru namun juga memiliki manfaat bagi manusia.

Kandungan senyawa pada biji klabet terdapat senyawa flavonoid yang juga bersifat sebagai antioksidan. Kandungan flavonoid pada klabet memiliki cara kerja yang berbeda dengan *thymoquinone* pada jintan hitam. Penelitian yang dilakukan oleh Akhlaghy & Bandy (2009) menunjukkan bahwa flavonoid dapat menekan aktivitas enzim *xantin oksidase* dan NADPH serta dapat mengikat logam ( $Fe^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$ ). Hal ini dapat menyebabkan reaksi redoks yang dapat mencegah radikal bebas. Flavonoid juga mampu meredam reaktivitas pada radikal bebas sehingga menghasilkan molekul yang lebih stabil. Flavonoid juga bekerja sebagai donor elektron terhadap anion superoksida.

Senyawa aktif pada tanaman seperti flavonoid dan *thymoquinone* dapat ditarik jika menggunakan pelarut yang tepat. Jika pelarut yang dipilih tidak sesuai, maka senyawa aktif tersebut tidak akan tertarik keluar sehingga manfaat yang diinginkan juga tidak dapat dirasakan. Pernyataan ini sesuai dengan pernyataan dari Hameed *et al* (2019) yang menyatakan bahwa pelarut etanol menunjukkan hasil yang lebih baik dalam menarik senyawa-senyawa antioksidan jika dibandingkan dengan air.

## **BAB V KESIMPULAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombinasi ekstrak 70% etanol biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum-graecum*) berpengaruh terhadap kadar *superoxide dismutase* (SOD) hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin.
2. Kombinasi ekstrak 70% etanol biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dan klabet (*Trigonella foenum-graecum*) berpengaruh terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin.

### **1.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut tentang dosis metformin, dosis *Nigella sativa* tunggal, dosis *Trigonella foenum-graecum* tunggal yang dapat efektif dalam menurunkan kadar MDA dan meningkatkan kadar SOD hepar. Selain itu, juga perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan pada kedua ekstrak tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbasnezhad, A., Hayatdavoudi, P., Niazmand, S. & Mahmoudabady, M. 2014. The Effects of Hydroalcoholic Extract of *Nigella sativa* Seed on Oxidative Stress in Hippocampus of STZ-induced Diabetic Rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 5(4):333-340.
- Aji, D. 2009. Perubahan Fungsi Hepar dan Ekskresi C-Reactive Protein (CRP) Pasca Operasi Laparatomi. *Jurnal Sains Veteriner*. 27(2).
- Akbari, S., Abdurahman, N. H., Yunus, R. M., Alara, O. R., & Abayomi, O. O. 2019. Extraction, Characterization and Antioxidant Activity of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Seed Oil. *Materials Science for Energy Technologies*. 2(2):349-355.
- Akhlaghi M. & Bandy, B. 2009. Review Article: Mechanism of Flavonoid Protection Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal Molecular and Cellular Cardiology*. 46:309-317.
- Alenzi, Q.F., Mohammed A.A.A., Omar K., Bassel T., Waleed T., Omar B., Ali A., Abdurahman B.T. A., Awwad K.A., Farhan A., Dhaifallah A., Mohammed L.S and Richard K.H.W. 2013. Antioxidant Properties of *Nigella sativa*. *Molecular and Genetic Medicine*. 7(3).
- Al-Mahally, I. J. & As-Suyutti, I. J. 2016. *Tafsir Jalalain berikut Asbab AN-nujulnya. Jilid 1*. Bandung: Sinar Baru.
- Amin, A., Wunas, J. & Anin, Y. M. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (*Streculia quadrifida* R. Br) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-piclylhydrozyl). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(2):111-114.
- Andaloussi, Ali B., Louis M., Tri V., Bouchra M., Padma M., Abdellatif S., & Pierre S.H. 2011. The In-Vivo Antidiabetic Activity of *Nigella sativa* is Mediated through Activation of the AMPK Pathway and Increased Muscle GLUT-4 Content. *Hindawi Journal*.
- As-Sa'di, Syaikh 'Abdurrahman bin Naashir. *Qur'an Surah Al-An'am Ayat 95*. [www.tafsirweb.com](http://www.tafsirweb.com).
- Aulanni'am, Roosdiana, A., Rahma, N. L. 2011. Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Cokelat (*Sargassum duplicatum* Bory) terhadap Penurunan Kadar Malondialdehid dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD (*Inflammatory Bowel Disease*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*. 4(1):57-64.
- Ayala, A., Munoz, M.F. & Arguelles, S. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism and Signaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Hindawi Publishing Corporation*.
- Bahmani, M., Shirzad, H., Mirhosseini, M., Mesripour, A. & Rafieian-Kopaei, M. 2016. A Review on Ethnobotanical and Therapeutic Uses of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Journal of Evidence-Based*. 21(1):53-62.

- Bare, Y., Mansur S., Sri S.N.D.T., Dewi R.T.S & Andri M. 2020. Virtual Screening: Prediksi Potensi 8-shoagol terhadap C-Jun N-Terminal Kinase (JNK). *Jurnal Penelitian dan Pengkajian Ilmu Pendidikan*. 4(1):1-6
- Bayir, H. 2005. Reactive Oxygen Species. *Critical Care Medicine*. 33(12).
- Baynest, H. W. 2015. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*. 06(05):1-10.
- Birben E., Sahiner UM., Sackesen C., Erzurum S. & Kalayci O. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*. 9-16.
- Bouayed, Jaouad & Bohn, Torsten. 2010. Exogenous Antioxidant-Double-Edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses Versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 3(4):228-237.
- Chis, I. C., Ungureanu, M. I., Marton, A., Simescu, R., Muresan, A., Postescu, I. & Decea, N. 2009. Antioxidant Effects of A Grape Seed Extract in A Rat Model of Diabetes Mellitus. *Diabetes & Vascular Disease Research*. 6(3):200-204.
- Cossarizza A., Ferraresi R., Troiano L., Rosi E., Gibellini L., Bertoncelli L., Nasi M., Pinti M.S. 2009. Analysis of Reactive Oxygen Species and Reduced Glutathione Content in Living Cells by Polychromatuv Flowcytometry. *Nat protoc*. 4
- Dringen, R., Pawlowski, P. G. & Hirrlinger, J. 2005. Peroxide Detoxification by Brain Cells. *J Neurosci Res*. 79:157-165.
- Erwin, Etriwati, Muttaqien, Pangestiningih, T. W. & Widyarini, S. 2007. Ekspresi Insulin pada Pankreas Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan Streptozotocin Berulang. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*. 7(2):97-100.
- Esterbauer, R. J., Eckl, P. & Ortner, A. 1990. Possible Mutagens Derived From Lipids and Lipid Precursors. *Mutation Research*. 283(3):223-233.
- Fararh, K. M., Atoji, Y., Shimizu Y., Shiina, T., Nikami, H. & Takewaki, T. 2004. Mechanism of the Hypoglycemic and Immunopotentiating Effects of *Nigella sativa* L. Oil in Streptozotocin-Induced Diabetic Hamsters. *Research in Veterinary Science*. 77:123-129.
- Fargion, S., Dongiovanni, P., Guzzo, A., Colombo, S., Valenti, L. & Fracanzani, A. L. 2005. Iron and Indulin Resistance. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics Supplement*. 22(2):61-63.
- Feillet-Coudray, C., Rock, E., Coudray, C., Grzelkowska, K., Azais-Braesco, V., Dardevet, D. & Mazur, A. 1999. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Experimental Diabetes. *Clinica Chimica Acta*. 284(1):31-43.

- Flora, S. J. S. 2007. Role of Free Radicals and Antioxidants in Health and Disease. *Cellular and Molecular Biology*. 53(1):1-2.
- Ganet S., Raosaheb K.K. & Najma Z.B. 2002. Alterations in Antioxidant Enzymes and Oxidative Damage in Experimental Diabetic Rat Tissues: Effect of Vanadate and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). 236:7-12.
- Gawet, S., Wardas, M., Niedworok, E. & Wardas, P. 2004. Malondialdehyde (MDA) as A Lipid Peroxidation Marker. *Wiadomosci Lekarskie*. 57(9-10):435-455.
- Giera, M., Lingeman, H. & Niessen, W. M. A. 2012. Recent Advancements in The LC and GC Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview. *Chromatographia*. 75(9-10):433-440.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidant In Vitro*. Di dalam: B.J.F Hudson, editor. Food Antioxidant. London: Elsevier Applied Sciences.
- Griffin, M. E., Marcucci, M. J., Cline, G. W., Bell, K., Barucci, N., Lee, D., Goodyear, L. J., Kraegen, E. W., White, M. F. & Shulman, G. I. 2000. Free Fatty Acid-Induced Insulin Resistance is Associated with Activation of Protein Kinase C and Alterations in the Insulin Signaling Cascade. *Diabetes*. 48(6):1270-1274.
- Gupta, M. M. & Chairi, S. 2005. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Patient with Diabetic Retinopathy. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 49(2):187.
- Hameed, S., Ali I., Mehr U.N., Muhammad S.A., Farhan S., M. Umair A. & M. Asif K. 2019. Characterization of Extracted Phenolics from Black Cumin (*Nigella sativa* linn), Coriander Seed (*Coriandrium sativum* L.) and Fenugreek Seed (*Trigonella foenum-graecum*). *International Journal of Food Properties*. 22(1):714-726.
- Hamka. 1984. *Tafsir Al-Azhar Jilid 7*. Jakarta: Pustaka Panjimas.
- Hilles, A. R. & Mahmood, S. 2016. A Review on Phytochemistry and Pharmacological Effects of *Trigonella foenum-graecum*. *Advanced Herbal Medicine*. 2(3):61-67.
- Husna, F., Suyatna, F. D., Arozal, W. & Purwaningsih, E. H. 2019. Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(3):131-141.
- Ighodaro, O. M. & Akinloye, O. A. 2018. First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) And Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in The Entire Antioxidant Defence Grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 54:287-293.

- ITIS. 2011. *ITIS (Integrated Taxonomic Information System)*. Taxonomic Hierarchy of *Mus musculus*, *Nigella sativa* and *Trigonella foenum-graecum*. [www.itis.gov](http://www.itis.gov).
- Jette, L., Harvey, L., Eugeni, K. & Levens, N. 2009. 4-Hydroxyisoleucine: A Plant Derived Treatment For Metabolic Syndrome. *Curr Opin Investing Drugs*. 10(4):353-358.
- Kaleem, M., Kirmani, D., Asif, M., Ahmed, Q. & Bano, B. 2006. Biochemical Effects of *Nigella sativa* L. Seeds in Diabetic Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 44:745-748.
- Kireev, R. A., Tresguerres, A. C. F., Garcia, C., Borrás, C. Ariznaverrata, C., Vara, E., Vina, J. & Tresguerres, J. A. F. 2010. Hormonal Regulation of Pro-Inflammatory and Lipid Peroxidation Processes in Liver of Old Ovariectomized Female Rats. *Biogerontology*. 11:229-243.
- Kumar, P. & Bhandari, R. 2013. Protective Effect of *Trigonella foenum-graecum* Linn. on Monosodium Glutamate-Induced Syslipidemia and Oxidative Stress in Rats. *Indian Journal of Pharmacology*. 45(2):136-140.
- Lach, H.C & Michalak, A. 2014. Oxidative Stress as A Crucial Factor in Liver Diseases. *World Journal of Gastroenterology*.
- Le, P. M., Benhaddou-Andaloussi, A., Elimadi, A., Settaf, A., Cherrah, Y. & Haddad, P. S. 2004. The Petroleum Ether Extract of *Nigella sativa* Exerts Lipid-Lowering and Insulin-Sensitizing Actions in The Rat. *Journal of Ethnopharmacology*. 94: 251-259.
- Lemos, E.T., Oliviera J., Pinheiro J.P. & Reis F. 2011. Review Article: Regular Physical Exercise as A Strategy to Improve Antioxidant and Anti-Inflammatory Status: Benefits in Type 2 Diabetes Mellitus. *Exp Diabetes Res*. 1-15.
- Lenzen, S. 2008. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetologia*. 51(2):216-226.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W. & Feng, Y. 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Disease. *International Journal of Molecular Science*. 16(11):26087-26124.
- Loven, D., Schedl, H., Wilson, H., Daabees, T. T., Stegink, L. D., Diekus, M. & Oberley, L. 1986. Effect of Insulin and Oral Glutathione on Glutathione Levels and Superoxide Dismutase Activities in Organs of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetes*. 35.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- Marnett, Lawrence J. 1999. Lipid Peroxidation-DNA Damage by Malondialdehyde. *Mutation Research*. 424:83-95.

- Mcgarry, J. D. & Dobbins, R. L. 2014. Fatty Acids, Lipotoxicity and Insulin Secretion. *Diabetologia*.
- Meral, I, Yener Z., Kahraman T. & Mert N. 2001. Effect of *Nigella sativa* on Glucose Concentration, Lipid Peroxidation, Anti-Oxidant Defence System and Liver Damage in Experimentally-Induced Diabetic Rabbits. *Journal Veterine Medicine*. 48:593-599.
- Mollazadeh, H & Hossein Hosseinzadeh. 2014. The Protective Effect of *Nigella sativa* Against Liver Injury: A Review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 17(12).
- Moskovitz, J., Yim, M. Bin & Chock, P. B. 2002. Free Radicals and Disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 397(2):354-359.
- Mowla, A., Alauddin, M., Rahman, Md. A. & Ahmed K. 2009. Antihyperglycemic Effect of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) Seed Extract in Alloxan-Induced Diabetic Rats and Its Use in Diabetes Mellitus: A Brief Qualitative Phytochemical and Acute Toxicity Test on The Extract. *Afr. J. Traditional*. 6(3):255-261.
- Mozaffari, F. S., Ghorbanli, M., Babai, A. & Sepehr, M. F. 2000. The Effect of Water Stress on The Seed Oil of *Nigella sativa* L. *Journal of Essential Oil Research*. 12(1):36-38.
- Muhammad, H. I., Asmawi, M. Z. & Khan, N. A. K. 2016. A Review on Promising Phytochemical, Nutritional and Glycemic Control Studies on *Moringa oleifera* Lam. In Tropical and Sub-Tropical Regions. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(10):896-902.
- Murray, R. K., Mays, P. A., Gamar D. K., Rodwell, V. W. 1992. *Biokimia*. Jakarta: EGC.
- Naso, D., Sim, A., Porawski, M., Anair, N. & Marroni, P. 2011. Exogenous Superoxide dismutase: Action on Liver Oxidative Stress in Animal with Streptozotocin-Induced Diabetes. *Experimental Diabetes Research*.
- Nickavar, B., Faraz M., Katayoun J. & Mohammad A.R.A. 2003. Chemical Composition of The Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Natanforchs*. 629-631.
- Niture, S.K., Jain A.K., Jaiswal, A.K. 2009. Antioxidant-Induced Modification of Nrf2 Cysteine 151 and PKC Mediated Phosphorylation of Nrf2 Serine 40 are Both Required for Stabilization and Nuclear Translocation of Nrf2 and Increased Drug Resistance. *J. cell sci*. 122:4425-4464
- Nugroho, R. A. 2018. *Mengenal Mencit sebagai Hewan Laboratorium*. Samarinda: Mulawarman University Press.
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A. & Olokoba, L. B. 2012. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal*. 27(4):269-273.

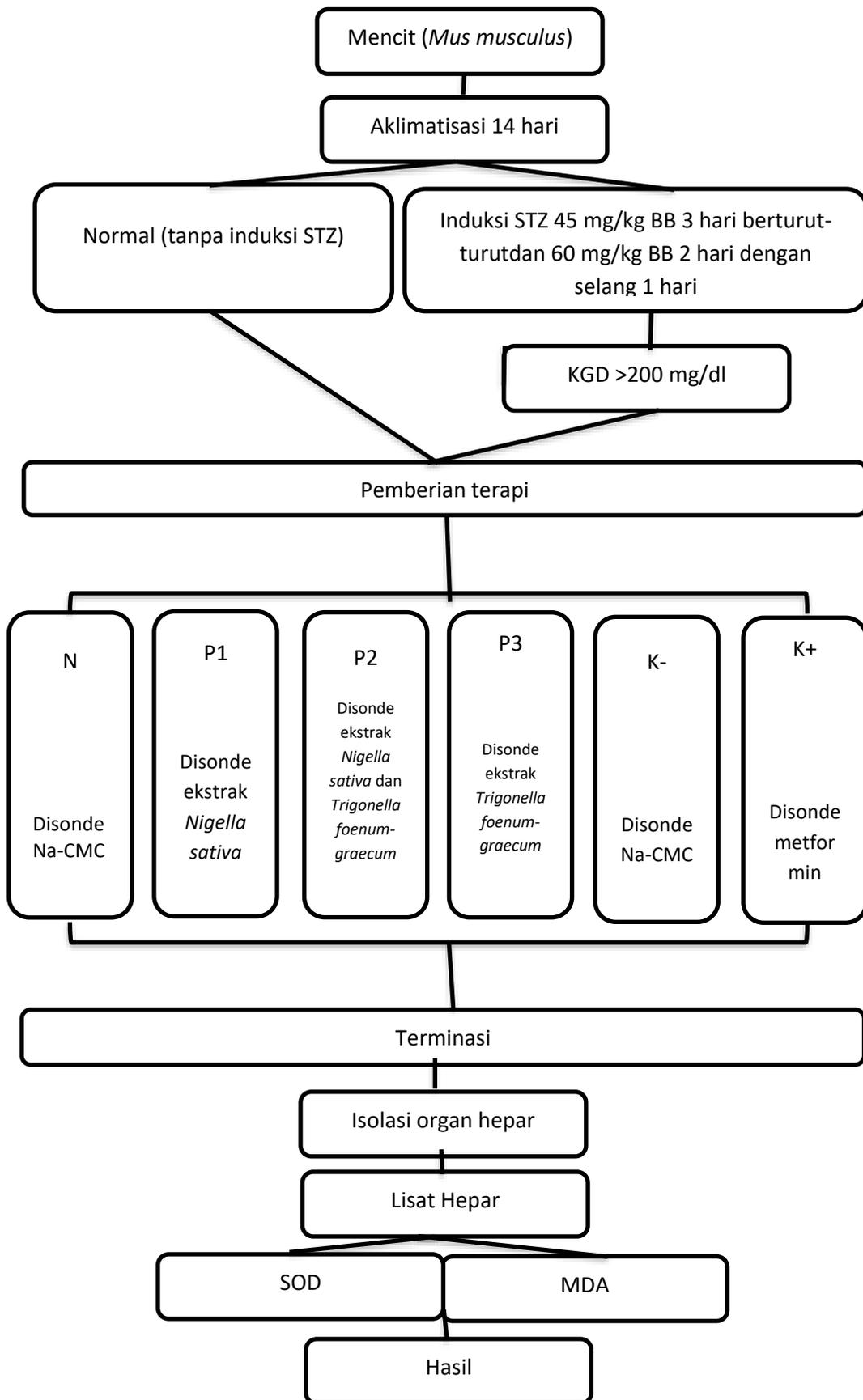
- Ostenson, C. G. 2001. The Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: An Overview. *Acta Physiologica Scandinavica*. 171(3): 241-247.
- Pang, B., Zhao, L.H., Zhou, Q., Zhao, T.Y., Wang, H., Gu, C. J. & Tong, X. L. 2015. Application of Berberine on Treating Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Endocrinology*.
- Paarakh, Padmaa M. 2010. *Nigella sativa* Linn. – A Comprehensive Review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 1(4):409-429.
- Pandey, K.B. & Syed I.R. 2010. Markers of Oxidative Stress in Erythrocytes and Plasma during Aging in Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 3(1).
- Patil, S & Jain, G. 2014. Holistic approach of *Trigonella foenum-graecum* in Phytochemistry and Pharmacology- A Review. *Current Trends in Technology and Science*. 3(1):34–38.
- Pessin, J. E., & Saltiel, A. R. 2000. Signaling Pathways in Insulin Action : Molecular Targets of Insulin Resistance Find The Latest Version : Signaling Pathways in Insulin Action : Molecular Targets. 106(2):165–169.
- Ragavan, B., & Krishnakumari S. 2009. Effect of *T. arjuna* Stem Bark Extract on Histopathology of Liver, Kidney and Pancreas of Alloxan-Induced Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*. 9(3):189–197.
- Rahmawati, G., Rachmawati F. N. & Winarsi Hery. 2014. Aktivitas Superoksida Dismutase Tikus Diabetes yang diberi Ekstrak Batang Kapulaga dan Glibenklamid. *Scripta Biologica*. 1(3):197-201.
- Richa, R., Yadawa, A. K., & Chaturvedi C. M. 2017. Hyperglycemia and High Nitric Oxide Level Induced Oxidative Stress in The Brain and Molecular Alteration in The Neurons and Glial Cells of Laboratory Mouse: *Mus musculus*. *Neurochemistry International*. 104:64–79.
- Riwu, M., Anas S. dan Keri L. 2015. Korelasi Faktor Usia, Cara Minum dan Dosis Obat Metformin terhadap Resiko Efek Samping pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 4(3):151-161.
- Rolo, A. P. & Carlos M. P. 2006. Diabetes and Mitochondrial Function: Role of Hyperglycemia and Oxidative Stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*. (212):167-178.
- Shi, Y., & Vanhoutte P. M. 2009. Reactive Oxygen-Derived Free Radicals Are Key to The Endothelial Dysfunction of Diabetes. *Journal of Diabetes*. 1(3):151–162.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'am Volume 9-10*. Jakarta: Lentera Hati.
- Slatter, D. A., Bolton, C. H., & Bailey, A. J. 2000. The Importance of Lipid-Derived Malondialdehyde in Diabetes Mellitus. 550–557.

- Srichamroen, A., Thomson, A. B. R., Field, C. J. & Basu, T. K. 2008. In Vitro Intestinal Glucose Uptake is Inhibited by Galactomannan from Canadian Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) in Genetically Lean and Obese Rats. *Nutrition Research*. 29:49-54.
- Stochmaova, A., Sirotkin, A., Kadasi, A. & Alexa, R. 2013. Physiological and Medical Effects of Plant Flavonoid Quercetin. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*. 2(1):1915-1926.
- Suasarna, IN., Wresdiyati, N., & Suprayogi, A. 2013. Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JTTV*. 18(2):146-152.
- Subhashini, N., Thangathirupathi, A., Lavanya, N. 2011. Antioxidant Activity of *Trigonella foenum-graecum* using Various In Vitro and Ex Vivo Moedels. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(2).
- Suhariningsih, Winarni, D., Husen, S. A., Khaleyly, F., Putra, A. P., & Astuti, S. D. 2020. The Effect of Electric Field, Magnetic Field, and Infrared Ray Combination to Reduce HOMA-IR Index and GLUT 4 In Diabetic Model of *Mus musculus*. *Lasers in Medical Science*. 35(6):1315–1321.
- Suharmiati, & Roosihermiatie, B. 2012. Studi Pemanfaatan dan Keamanan Kombinasi Metformin dengan Ekstrak Campuran *Andrographis Paniculata* dan *Syzygium polyanthum* untuk Pengobatan Diabetes Mellitus (Preliminary Study). *Buletin Penelitian Kesehatan*. 15(2):110–119.
- Susanti, D.A., Dewi K.S.P., Ariati N.K. 2015. Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) untuk Memperbaiki Kerusakan Sel Beta Pankreas Melalui Penurunan Kadar Glukosa Darah, Advanced Glycation End Product dan 8-Hidroksi-2-Dioksiguanosin pada Tikus Wistar Hiperglikemia. *Jurnal Kimia*. 9(2).
- Susilowati, R., Vicki A., M. Rizqon N., & Diana A.R. 2019. The Efficacy of *Nigella sativa* L. Extract to Reduce Cardiovascular Disease Risk in Diabetic Dyslipidemia. *International Conference on Biology and Applied Science*.
- Swaroop, A., Bagchi, M., Preuss, H. G., & Bagchi, D. 2018. Safety and Antidiabetic Efficacy of a Novel *Trigonella foenum-graecum* Seed Extract. In *Nutritional and Therapeutic Interventions for Diabetes and Metabolic Syndrome (Second Edi)*. Elsevier Inc.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of The Rat Pancreas. *Physiological Research*. 50(6):537–546.
- Tellingen, C.V. 2003. Organ Physiology From a Phenomenological Point of View. *Louis Bolk Instituut, Driebergen*. 89-90.
- Tewari, D., Jozwik, A., Malgorzata L., Grzybek, W. 2020. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Seeds Dietary Supplementation Regulates Liver Antioxidant Defense System in Aging Mice. *Nutrients*. 12.

- Tobe, K., Nemoto, S., & Kadowaki, T. 2005. Molecular Mechanism of Insulin Resistance. *Nippon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine*. 63:114–130.
- Yessuf, A. M. 2015. Phytochemical Extraction and Screening of Bio Active Compounds from Black Cumin (*Nigella sativa*) Seeds Extract. *American Journal of Life Sciences*. 3(5):358-364.
- Wani, S.A. & Pradyuman, K. 2018. Fenugreek: A Review on Its Nutraceutical Properties and Utilization in Various Food Product. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Science*. 17: 97-106
- Wharf, C & Kingdom, U. 2010. Assesment Report on *Trigonella foenum-graecum* L. *Semen*. 44.
- Widyaningsih, W., Sativa, R. & Primardiana, I. 2015. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva lactuca* L.) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Tikus yang Diinduksi  $CCl_4$ . *Media Farmasi*. 12(2):163-175.
- Wiyono, P. 2003. Peranan Hiperglikemia terhadap Terjadinya Komplikasi Kronik Diabetes Melitus. *Berkala Ilmu Kedokteran*. 35(1): 55-60.
- Wresdiyati, T., Astawan M., Hastanti L.Y., 2006. Profil Imunohistokimia Antioksidan Superoksida Dismutase (SOD) pada Jaringan Hati Tikus di Bawah Kondisi Hiperkolesterolemia. *Hayati*.
- Yilmaz, H. R., Uz, E., Yucel, N., Altuntas, I. & Ozcelik, N. 2004. Protective Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Diabetic Rat Liver. *J Biochem Molecular Toxicology*. 18(4).
- Yunus, Moch. 2001. Pengaruh Antioksidan Vitamin C terhadap MDA Eritrosit Tikus Wistar Akibat Latihan Anaerobik. *Jurnal Penelitian Jasmani*. (1):9-16.
- Yustika, A.R., Aulanni'am & S. Prasetyawan. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A. *Kimia Student Journal*. 1(2):222-228.
- Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T., & Davies, M. J. 2016. Pathophysiology of Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus: A 90-Year Perspective. *Postgraduate Medical Journal*. 92(1084):63–69.
- Zhang, M., Lv, Xiao-Yan, Li, J., Xu, Zhi-Gang & Chen, L. 2008. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. *Experimental Diabetes Research*.
- Zhou, J.Y., Zhou, S.W. 2011. Protective Effect of Barbarine on Antioxidant Enzymes and Positive Transcription Elongation Factor b Expression in Diabetic Rat Liver. *Fitoterapia*. 82:184-189.

Zimmet, P., Alberti, K. G. M. M., & Shaw, J. 2001. Global and Societal Implications of The Diabetes Epidemic. *Nature*. 414(6865):782–787.

## Lampiran 1. Alur Penelitian



**Lampiran 2. Data Kadar SOD Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Streptozotocin setelah diberi Perlakuan Ekstrak Etanol 70% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum-graecum*).**

PERLAKUAN	ULANGAN					JUMLAH	RATA-RATA
	1	2	3	4	5		
N	10,08	8,16	8,18	10,12	11,00	47,54	9,51
P1	13,02	12,50	12,89	12,76	14,28	65,45	13,09
P2	18,41	18,49	18,37	18,77	17,49	91,53	18,31
P3	10,20	12,24	10,20	12,63	16,32	61,59	12,32
K-	7,05	6,07	9,10	9,09	7,02	38,33	7,67
K+	8,20	8,12	8,09	6,12	8,22	38,75	7,75

**Lampiran 3. Data Kadar MDA Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Streptozotocin setelah diberi Perlakuan Ekstrak Etanol 70% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Klabet (*Trigonella foenum-graecum*).**

PERLAKUAN	ULANGAN					JUMLAH	RATA-RATA
	1	2	3	4	5		
N	4,92	5,43	6,03	5,89	6,00	28,27	5,65
P1	6,22	6,11	6,41	5,71	5,95	30,40	6,08
P2	3,52	4,23	3,87	4,00	3,25	18,87	3,77
P3	4,52	5,00	6,11	5,09	5,06	25,78	5,16
K-	9,70	8,19	7,30	7,88	8,97	42,04	8,41
K+	5,71	6,71	6,98	5,98	7,46	32,84	6,57

## Lampiran 4. Perhitungan Statistik Kadar SOD Hepar Mencit

### 1. Uji Normalitas

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Ulangan	Kadar_SOD
N		30	30	30
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	3.50	3.00	11.4397
	Std. Deviation	1.737	1.438	3.96686
Most Extreme Differences	Absolute	.139	.157	.156
	Positive	.139	.157	.156
	Negative	-.139	-.157	-.103
Kolmogorov-Smirnov Z		.764	.857	.854
Asymp. Sig. (2-tailed)		.604	.454	.459
a. Test distribution is Normal.				

## 2. Uji Homogenitas

### Descriptives

Kadar_SOD								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	5	9.5080	1.27559	.57046	7.9242	11.0918	8.16	11.00
Nigella	5	13.0900	.69246	.30968	12.2302	13.9498	12.50	14.28
Trigonella	5	12.3180	2.50456	1.12007	9.2082	15.4278	10.20	16.32
Nigella dan Trigonella	5	18.3060	.48216	.21563	17.7073	18.9047	17.49	18.77
Kontrol negatif	5	7.6660	1.36273	.60943	5.9739	9.3581	6.07	9.10
Metformin	5	7.7500	.91280	.40822	6.6166	8.8834	6.12	8.22
Total	30	11.4397	3.96686	.72425	9.9584	12.9209	6.07	18.77

### Test of Homogeneity of Variances

Kadar\_SOD

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.255	5	24	.081

**3. Uji One-Way Anova****ANOVA**

Kadar_SOD					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	411.136	5	82.227	43.652	.000
Within Groups	45.209	24	1.884		
Total	456.344	29			

#### 4. Uji lanjut Duncann

Kadar\_SOD

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
Kontrol negatif	5	7.6660		
Metformin	5	7.7500		
Normal	5	9.5080		
Trigonella	5		12.3180	
Nigella	5		13.0900	
Nigella dan Trigonella	5			18.3060
Sig.		.055	.383	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

## Lampiran 5. Analisis Statistik MDA

### 1. Uji Normalitas

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Ulangan	KadarMDA
N		30	30	30
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	3.5000	3.0000	5.9400
	Std. Deviation	1.73702	1.43839	1.53376
Most Extreme Differences	Absolute	.139	.157	.128
	Positive	.139	.157	.128
	Negative	-.139	-.157	-.074
Kolmogorov-Smirnov Z		.764	.857	.699
Asymp. Sig. (2-tailed)		.604	.454	.713
a. Test distribution is Normal.				

## 2. Uji Homogenitas

### Descriptives

KadarMDA								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	5	5.6540	.47585	.21281	5.0632	6.2448	4.92	6.03
Nigella sativa	5	6.0800	.26608	.11900	5.7496	6.4104	5.71	6.41
Trigonella	5	5.1560	.58149	.26005	4.4340	5.8780	4.52	6.11
Kombinasi Nigella dan Trigonella	5	3.7740	.38965	.17426	3.2902	4.2578	3.25	4.23
Kontrol Negatif	5	8.4080	.94062	.42066	7.2401	9.5759	7.30	9.70
Metformin	5	6.5680	.71894	.32152	5.6753	7.4607	5.71	7.46
Total	30	5.9400	1.53376	.28003	5.3673	6.5127	3.25	9.70

### Test of Homogeneity of Variances

KadarMDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.093	5	24	.101

**3. Uji *One-Way Anova*****ANOVA**

KadarMDA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59.465	5	11.893	32.601	.000
Within Groups	8.755	24	.365		
Total	68.220	29			

#### 4. Uji Lanjut Duncann

##### KadarMDA

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
Kombinasi Nigella dan Trigonella	5	3.7740			
Trigonella	5		5.1560		
Normal	5		5.6540	5.6540	
Nigella sativa	5		6.0800	6.0800	
Metformin	5			6.5680	
Kontrol Negatif	5				8.4080
Sig.		1.000	.030	.032	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					

**Lampiran 6. Gambar Penelitian**



Pembuatan STZ



Pengukuran KGD mencit



Terminasi Mencit

Sonde



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK  
IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

Form Checklist Plagiasi

**Nama** : Icha Nadhirotul Izza Afida  
**NIM** : 17620117  
**Judul** : PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 70% BIJI  
*Nigella sativa* DAN *Trigonella foenum-graecum*  
TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN  
MALONDIALDEHYDE HEPAR *Mus musculus* YANG  
DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	24%	



Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi

**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**

NIP. 19741018 200312 2 002

19/11/21 10.27

[https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print\\_jurnal\\_bimbingan\\_tugas\\_akhir.php?76](https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print_jurnal_bimbingan_tugas_akhir.php?76)

**KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK  
IBRAHIM MALANG**

Jalan Gajayana Nomor 50,  
Telepon (0341)551354, Fax.  
(0341) 572533 Website:  
<http://www.uin-malang.ac.id>  
Email: [info@uin-malang.ac.id](mailto:info@uin-malang.ac.id)

**JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI**

**IDENTITAS MAHASISWA**

NIM : 17620117  
Nama : ICHA NADHIROTUL IZZA AFIDA  
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI  
Jurusan : BIOLOGI  
Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si Dosen  
Pembimbing 2 : MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc  
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi :

PENGARUH MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DAN KELABAT (*Trigonella foenum-graecum* L.) TERHADAP KADAR SOD DAN MDA HEPAR MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN

**IDENTITAS BIMBINGAN**

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	2021-01-24	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Konsultasi judul skripsi	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
2	2021-01-27	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Konsultasi perlakuan	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
3	2021-02-19	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Pendahuluan integrasi	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
4	2021-02-22	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Konsul Bab I	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
5	2021-03-05	Prof. Dr. RETNO	Revisi Bab I	2020/2021	Sudah

19/11/21 10.27

[https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print\\_jurnal\\_bimbingan\\_tugas\\_akhir.php?7e](https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print_jurnal_bimbingan_tugas_akhir.php?7e)

		SUSILOWATI		Genap	Dikoreksi
6	2021-03-08	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Konsul integrasi bab I	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
7	2021-03-17	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Revisi integrasi bab I	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
8	2021-03-26	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Konsul Bab II	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
9	2021-03-29	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Penentuan dosis perfakuan	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
10	2021-04-04	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Revisi Bab II	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
11	2021-04-06	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Konsul Integrasi Bab II	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
12	2021-04-09	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Konsultasi Bab III	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
13	2021-04-14	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	ACC proposal	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
14	2021-04-26	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	ACC proposal	2020/2021 Genap	Sudah Dikoreksi
15	2021-09-26	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Konsul Integrasi Bab IV	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
16	2021-09-27	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Konsul Bab IV dan Bab V	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
17	2021-11-01	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Revisi Bab IV dan Bab V	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
18	2021-11-02	Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI	Konsul Bab IV dan Bab V	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
19	2021-11-06	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Revisi Integrasi Bab IV	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
20	2021-11-12	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Revisi Integrasi Bab II	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
21	2021-11-16	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	ACC Bab I-Bab IV	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi

19/11/21 10.27

[https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print\\_jurnal\\_bimbingan\\_tugas\\_akhir.php?77](https://siakad.uin-malang.ac.id/jurusan/print_jurnal_bimbingan_tugas_akhir.php?77)

Telah disetujui  
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

Malang : 19 November 2021  
Dosen Pembimbing 1



MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc



Prof. Dr. RETNO SUSILOWATI, M.Si



Kapri, Kaprodi,