EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) PADA HEPAR TIKUS MODEL DIABETES MELITUS

SKRIPSI

Oleh :

NUR ALQURRATU A'YUNI SYUKRI

NIM : 19910009

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) PADA HEPAR TIKUS MODEL DIABETES MELITUS

SKRIPSI

Diajukan Kepada :
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Oleh :
NUR ALQURRATU A'YUNI SYUKRI
NIM : 19910009

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2022

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) PADA HEPAR TIKUS MODEL DIABETES MELITUS

SKRIPSI

Oleh :

NUR ALQURRATU A'YUNI SYUKRI

NIM : 19910009

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal : 26 Desember 2022

Pembimbing I	Pembimbing II
dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed NIP. 198310242011012007	dr. Putri Wulan Akbar, M.Ked., Trop NIP. 198608282019032006

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Tjas Pramesti Griana, M.Biomed
NIP. 198105182011012000

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) PADA HEPAR TIKUS MODEL DIABETES MELITUS

SKRIPSI

Oleh :

NUR ALQURRATU A'YUNI SYUKRI

NIM : 19910009

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Tanggal : 26 Desember 2022

Penguji Utama	dr. Ana Rahmawati, M.Biomed NIP. 197412032009122001	
Ketua Penguji	dr. Putri Wulan Akbar, M.Ked., Trop NIP. 198608282019032006	
Sekretaris Penguji	dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed NIP. 198310242011012007	
Anggota Penguji	Nur Toifah, M.Pd NIP. 19810915 201802012216	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Ika Ramesti Griana, M.Biomed
NIP. 198105182011012000

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	:	Nur Alqurratu A'yuni Syukri
NIM	:	19910009
Program Studi	:	Pendidikan Dokter
Fakultas	:	Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis berikut benar-benar merupakan hasil karya yang saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pemikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil menjiplak, maka saya bersedia bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Malang, 6 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,

SEPULUH RIBU RUPIAH 10000 METERAI TEMPEL FFC12AKX234513552

Nur Alqurratu A'yuni Syukri

19910009

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirabbil alamin, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Swt. yang telah memberikan karunia yang tak terhitung sehingga penulis mampu menyelesaikan proposal skripsi berikut dengan baik. Penulis mengucapkan terima kasih kepada segala pihak yang telah membantu penyelesaian proposal skripsi berikut. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes, Sp.Rad (K) selaku Dekan FKIK UIN Malang yang telah menginspirasi penulis dalam semangat belajar dan berkarya.
3. dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah menginspirasi penulis untuk rajin, tekun, dan ikhlas dalam mengerjakan proposal skripsi.
4. dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed, selaku dosen pembimbing skripsi I yang telah memberi kesempatan untuk penulis belajar dan dalam prosesnya memberikan masukan, arahan, dan bimbingan dalam mengerjakan proposal skripsi dan penelitian.
5. dr. Putri Wulan Akbar, M.Ked., Trop, selaku dosen pembimbing skripsi II yang telah banyak banyak memberikan pengarahan dan pengalaman selama mengerjakan proposal skripsi.
6. dr. Ana Rahmawati, M.Biomed, selaku selaku penguji utama yang telah memberikan masukan dan arahan kepada penulis.
7. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter yang membantu pembuatan proposal penulisan berikut.
8. Orang tua penulis, yaitu Drs. H. Sukri, M.Si dan Dra. Hj. Arinah, S.Pd yang selalu memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan studi.

9. Kakak-kakak penulis yaitu Dzunnuraini Syukri dan Muhammad Hidayatullah Syukri yang menjadi motivasi penulis dalam menyelesaikan studi.
10. Teman-teman PSPD UIN Malang angkatan 2019 terutama rekan penelitian penulis, yaitu Aulia Sri Nastiti Suwondo, Mahasya Khafiralia, Muhammad Daffa Abhista Reviansyah, Rasyidu Fabian Masyhuri, dan Firdaus Silahudin Fauzi yang memberikan dukungan yang banyak kepada penulis.
11. Semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian proposal skripsi yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan proposal skripsi ini masih perlu untuk diperbaiki dan penulis berharap proposal skripsi berikut dapat membawa manfaat kepada para pembaca terutama bagi penulis secara pribadi. *Aamiin ya rabbal alamin*. *Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*.

Malang, 6 Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....5
KATA PENGANTAR.....6
DAFTAR TABEL.....11
DAFTAR GAMBAR.....12
DAFTAR LAMPIRAN.....13
ABSTRAK.....14
ABSTRACT.....15
BAB I.....16
PENDAHULUAN.....16
1.1 Latar Belakang.....16
1.2 Rumusan Masalah.....19
1.2.1 Rumusan Masalah Umum Penelitian.....19
1.2.2 Rumusan Masalah Khusus Penelitian.....19
1.3 Tujuan Penelitian.....19
1.3.1 Tujuan Umum Penelitian.....19
1.3.2 Tujuan Khusus Penelitian.....19
1.4 Manfaat Penelitian.....20
1.4.1 Manfaat Teoritis.....20
1.4.2 Manfaat Praktis.....20
BAB II.....21
TINJAUAN PUSTAKA.....21
2.1 Diabetes Melitus.....21
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi Diabetes Melitus.....21
2.1.2 Epidemiologi Diabetes Melitus.....23
2.1.3 Faktor Resiko Diabetes Melitus.....24
2.1.4 Patofisiologi Diabetes Melitus.....24
2.1.4.1 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 1.....24
2.1.4.2 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2.....25
2.1.5 Manifestasi Klinis Diabetes Melitus.....26
2.1.6 Komplikasi Diabetes Melitus.....27
2.2 Komplikasi Diabetes Melitus pada Hepar.....28
2.3 Stres Oksidatif pada Diabetes Melitus.....33
2.3.1 Jalur Poliol.....34
2.3.2 Jalur Heksosamine.....35
2.3.3 Jalur Aktivasi Protein Kinase C.....35
2.3.4 Jalur Glikasi atau *Advanced Glycation End Products* (AGEs).....36

2.3.5 Jalur Autooksidasi Gliseraldehida..... 36
2.4 Antioksidan pada Diabetes Melitus..... 36
2.5 *Superoxide Dismutase* (SOD) pada Diabetes Melitus..... 39
2.6 Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*).....42
2.6.1 Tinjauan Umum..... 42
2.6.2 Taksonomi dan Morfologi..... 42
2.6.3 Kandungan Senyawa Fitokimia Daun Dandang Gendis.....43
2.6.4 Aktivitas Farmakologi Daun Dandang Gendis.....44
2.7 Toksisitas..... 46
2.7.1 Akut.....46
2.7.2 Sub Kronis..... 47
2.8 Hewan Coba Tikus Model Diabetes Melitus.....48
2.8.1 *Rattus norvegicus* strain Wistar.....48
2.8.2 *Streptozotocin* (STZ)..... 49
2.9 Spektrofotometri..... 52
2.10 Integrasi Islam.....52
2.11 Kerangka Teori..... 55
BAB III..... 58
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....58
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....58
3.2 Hipotesis Penelitian..... 60
BAB IV.....61
METODE PENELITIAN.....61
4.1 Desain Penelitian..... 61
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian..... 61
4.3 Populasi Penelitian.....62
4.4 Sampel Penelitian.....62
4.4.1 Besar Sampel..... 62
4.4.2 Karakteristik Sampel.....64
4.4.2.1 Kriteria Inklusi.....64
4.4.2.2 Kriteria Eksklusi..... 64
4.5 Alat dan Bahan Penelitian..... 65
4.6 Definisi Operasional..... 66
4.7 Prosedur Penelitian..... 67
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun *Clinacanthus nutans*.....68
4.7.2 Perlakuan Hewan Coba.....71
4.7.3 Pengukuran SOD..... 73

4.8 Alur Penelitian.....76
4.9 Analisis Data.....77
BAB V.....78
HASIL PENELITIAN.....78
5.1 Karakteristik Hewan Coba.....78
5.2 Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Clinacanthus nutans terhadap Kadar SOD.82
BAB VI.....87
PEMBAHASAN.....87
6.1 Karakteristik Hewan Coba.....87
6.2 Efek Pemberian Ekstrak *Clinacanthus nutans* terhadap Kadar SOD Hepar Tikus Model DM.....89
6.3 Keterbatasan Penelitian.....92
BAB VII.....93
KESIMPULAN DAN SARAN.....93
7.1 Kesimpulan.....93
7.2 Saran.....93
DAFTAR PUSTAKA.....94
LAMPIRAN.....103

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Fitokimia Ekstrak Daun *Clinacanthus nutans* 43
Tabel 4.1 Kelompok Perlakuan 63
Tabel 4.2 Alat dan Bahan Penelitian 65
Tabel 4.3 Definisi Operasional Penelitian 66
Tabel 5.1 Rata-Rata Berat Badan dan Gula Darah PuasaTikus Kontrol Normal 80
Tabel 5.2 Rata-Rata Berat Badan dan Gula Darah PuasaTikus Kontrol Diabetes Mellitus 82
Tabel 5.3 Rata-Rata Kadar Total SOD Hepar Tikus 84
Tabel 5.4 Hasil Uji *Post Hoc Mann Whitney U* 85

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Patofisiologi NAFLD pada Diabetes Melitus 30
Gambar 2.2 Pengaruh Stres Oksidatif pada Jaringan Hati Selama NAFLD 31
Gambar 2.3 Aktivasi Jalur Keap1-Nrf2-ARE pada Kondisi Homeostatik dan Kondisi Stres 32
Gambar 2.4 Mekanisme Hiperglikemia Menginduksi Peningkatan Produksi ROS 34
Gambar 2.5 Mekanisme Antioksidan Endogen 37
Gambar 2.6 Tanaman Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) 43
Gambar 2.7 Struktur (a) Glukosa (b) N-asetil glukosamin (c) Streptozotocin (d) Metil nitrosourea 49
Gambar 2.8 Mekanisme STZ Menginduksi Diabetes Melitus 50
Gambar 2.9 Bagan Kerangka Teori 55
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep 58
Gambar 4.1 Alur Penelitian 76
Gambar 5.1 Rata-Rata Berat Badan dan Gula Darah PuasaTikus Kontrol Normal 79
Gambar 5.2 Rata-Rata Berat Badan dan Gula Darah PuasaTikus Kontrol Diabetes Mellitus 81
Gambar 5.3 Rata-Rata Kadar Total SOD Hepar Tikus 83

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik 103
Lampiran 2. Determinasi Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) 104
Lampiran 2. Karakteristik Hewan Coba 105
Lampiran 4. Pengukuran Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus 115
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian 124

ABSTRAK

Syukri, Nur Alqurratu A'yuni. 2022. EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) PADA HEPAR TIKUS MODEL DIABETES MELITUS. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu - Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
Pembimbing (I) dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed (II) dr. Putri Wulan Akbar, M.Ked., Trop.

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu faktor resiko penyakit hepar. Kerusakan hepar dapat terjadi akibat hiperglikemia menyebabkan penurunan kadar antioksidan dan meningkatkan radikal bebas. Pada kasus DM, antioksidan endogen yang mengalami penurunan di hepar salah satunya adalah *superoxide dismutase* (SOD). Daun *Clinacanthus nutans* mengandung beberapa senyawa metabolit diantaranya flavonoid, steroid atau triterpenoid, tanin, fenol, quinon dan saponin yang dapat meningkatkan antioksidan endogen. Tujuan dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* terhadap kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus. Hewan coba diinduksi diabetes melitus menggunakan *Streptozotocin* (STZ) dosis 45 mg/kgBB. Sebanyak 30 ekor tikus, dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Kelompok kontrol normal (K1) tidak diberi perlakuan kelompok kontrol diabetes melitus (K2) diinjeksi STZ, kelompok P1, P2, dan P3 adalah kelompok perlakuan yang diinjeksi STZ dan ekstrak etanol *Clinacanthus nutans* dosis berturut-turut 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Hari ke-35 tikus diterminasi dan supernatan jaringan hepar dihitung kadar SOD menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang signifikan (p <0,05) pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* terhadap kadar SOD hepar tikus yang diinduksi STZ. Kesimpulan penelitian ini, pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* berpengaruh terhadap peningkatan kadar SOD hepar tikus yang diinduksi STZ. Dosis 400 mg/kgBB merupakan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* yang paling signifikan. Persentase peningkatan kadar SOD hepar mencapai 23,23%.

Kata Kunci : Diabetes Melitus, *Clinacanthus nutans*, *Superoxide dismutase,* Hepar.

ABSTRACT

Syukri, Nur Alqurratu A'yuni. 2022. EFEK EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) PADA HEPAR TIKUS MODEL DIABETES MELITUS. Skripsi. Medical Education Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang.
Advisor (I) dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed (II) dr. Putri Wulan Akbar, M.Ked., Trop.

Diabetes Mellitus (DM) is a risk factor for liver disease. Liver damage occur because hyperglycemia will decrease antioxidant levels and increase free radicals. One of the endogenous antioxidants that has decreased in the liver is *superoxide dismutase* (SOD). *Clinacanthus nutans* leaf contain several metabolites including flavonoids, steroids or triterpenoids, tannins, phenols, quinones and saponins that can increase endogenous antioxidants. The aim of this study to determine the effect of giving ethanol extract of *Clinacanthus nutans* leaf on increase liver *superoxide dismutase* (SOD) levels of diabetic rat models. Experimental animals induced diabetes mellitus using *Streptozotocin* (STZ) dose 45 mg/kgBW with a total of 30 rats divided into five groups. The normal control group (K1) was not treated, the diabetes mellitus control group (K2) was injected with STZ, groups P1, P2, and P3 were the treatment groups that were injected with STZ and ethanol extract of *Clinacanthus nutans* leaf with a successive dose of 100 mg/kgBW, 200 mg/kgBW, and 400 mg/kgBW. On day 35 the rats were terminated and supernatant of liver tissue was measured for SOD levels using a UV-Vis spectrophotometer. The results showed a significant difference (p <0.05) in the administration ethanol extract of Clinacanthus nutans leaf for 28 days on the liver SOD levels of rats induced by STZ. The conclusion of this study, giving ethanol extract of *Clinacanthus nutans* leaf for 28 days had an effect on liver SOD levels of rats induced by STZ. The dose of 400 mg/kgBB is the most significant ethanol extract of Clinacanthus nutans leaves. The percentage increase in hepatic SOD levels reached 23.23%.

Keywords : Diabetes Melitus, *Clinacanthus nutans, Superoxide dismutase*, Liver.

BAB I

PENDAHULUA

N

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan kumpulan gangguan metabolisme yang ditandai adanya hiperglikemia. Diabetes melitus menjadi masalah kesehatan serius di dunia. *International Diabetes Federation* (IDF) memperkirakan adanya kenaikan jumlah penderita DM global dari 9,3% atau 463 juta orang di tahun 2019 menjadi 10,2% atau 578 juta orang pada tahun 2030 dan 10,9% atau 700 juta orang pada tahun 2045 (IDF, 2019). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) memperkirakan prevalensi DM di Indonesia pada penduduk usia diatas 15 tahun memiliki prevalensi 8,5% atau sekitar 14 juta jiwa pada tahun 2018. Riskesdas menyatakan pada tahun 2018 terjadi peningkatan DM sebesar 2,6% dibandingkan pada tahun 2013 (Riskesdas, 2018).

Diabetes melitus dapat menimbulkan komplikasi pada organ-organ tubuh, salah satunya pada organ hepar. Hepar memiliki peran sebagai organ detoksifikasi. Hepar sangat sensitif terhadap bahan toksik salah satunya *reactive oxygen species* (ROS). Hiperglikemia pada DM menyebabkan teraktivasinya jalur alternatif metabolisme glukosa yaitu jalur poliol, heksosamin, aktivasi protein kinase C, glikasi, dan autooksidasi gliseraldehid yang semuanya menginduksi produksi ROS (Román-Pintos dkk., 2016). Peningkatan produksi ROS memicu terjadi stres oksidatif. Stress oksidatif merupakan keadaan tubuh yang mengalami ketidakseimbangan antara oksidan

dan antioksidan (Zuhriyah dkk., 2021).

Stres oksidatif dapat menyebabkan komplikasi DM pada organ hepar, salah satunya penyakit *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) (Mohamed dkk., 2016). Penyakit NAFLD merupakan akumulasi lemak hati ≥5%. Indonesia menjadi negara dengan prevalensi NAFLD tertinggi se-Asia Tenggara sebanyak 30% dengan terjadinya peningkatan kasus sekitar 0,5-1% setiap tahunnya di RSUP dr. Kariadi Semarang (Medina dkk., 2018).

Kondisi stres oksidatif pada sel hepar menyebabkan ATP turun. Disfungsi sistem antioksidan yang diinduksi penurunan ATP menyebabkan penurunan aktivitas *nuclear factor-erythroid-2 related factor 2* (Nrf2) sehingga kadar SOD menurun (Gonzalez dkk., 2020). Fungsi Nrf2 untuk mensintesis antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase* (SOD) (Shinta & Kusuma, 2015).

Antioksidan merupakan mekanisme pertahanan tubuh untuk menetralkan atau menghancurkan radikal bebas di dalam tubuh dan menghambat proses oksidasi sebelum terjadi stres oksidatif (Gupta, 2015) Antioksidan dapat ditemukan pada bahan-bahan alam seperti tumbuh-tumbuhan (Nirmala Sari dkk., 2016). Tumbuh-tumbuhan yang berpotensi mengobati DM untuk meminimalisir komplikasi hepar, salah satunya yaitu dandang gendis (Alam dkk., 2016). Memanfaatkan tumbuh-tumbuhan di alam sebagai obat telah tercantum dalam ayat Al-Quran surah Asy-Syu’ara ayat 7, Allah SWT berfirman

:

(أَوَلَمْ يَرَ وْ اْ إِلَى اْلأَرْضِ كَمْ أَنبَتْنَا فِهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِ يْمٍ (الشعراء:٧

Artinya: "*Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*" (Q.S. Asy-Syu'ara: 7).

Dalam ayat diatas telah dijelaskan sebagai umat manusia untuk memperhatikan tanda kebesaran Allah SWT di lingkungan kita, salah satunya memperhatikan tumbuh-tumbuhan yang memiliki beragam jenis dan manfaat yang dapat kita gunakan sebagai obat. Tumbuhan adalah anugerah yang telah Allah SWT berikan, dapat dimanfaatkan sebaik mungkin. Penggunaan tumbuh- tumbuhan yang memiliki aktivitas antidiabetes semakin diminati masyarakat karena salah satu manfaatnya untuk mengurangi efek samping penggunaan obat (Fathul Yusro dkk., 2020).

Tanaman yang dapat dikembangkan sebagai antidiabetes yaitu dandang gendis (*Clinacanthus nutans*), mudah ditemukan di wilayah tropis. Tanaman ini tersebar di Indonesia, Malaysia, Afrika, Brazil, dan Amerika Tengah (Tambaru dkk., 2019). Daun *Clinacanthus nutans* mengandung beberapa senyawa metabolit diantaranya flavonoid, steroid atau triterpenoid, tanin, fenol, quinon (Wijaya dkk., 2019) dan saponin (Widayat & Setyahadi, 2022).

Senyawa metabolit pada *Clinacanthus nutans* berperan sebagai antidiabetes. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nurulita dkk. (2007) membuktikan ekstrak aqueous daun *Clinacanthus nutans* berperan dalam menurunkan glukosa darah mencit dan fraksi etanol daun *Clinacanthus nutans* dengan adanya senyawa fitokimia seperti flavonoid, steroid dan tanin dapat menurunkan glukosa darah mencit. Pada penelitian Imam dkk. (2019), tikus DM yang diberikan ekstrak aqueous daun *Clinacanthus nutans* dengan

dosis 100 mg dan 200 mg menyebabkan glukosa darah puasa tikus turun. Berdasarkan penelitian diatas, dapat disimpulkan bahwa daun *Clinacanthus nutans* dapat dijadikan alternatif sebagai antidiabetes alami. Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik meneliti tentang efek pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* sebagai antioksidan untuk mencegah komplikasi DM dengan mengukur kadar SOD pada hepar tikus model DM.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan Masalah Umum Penelitian

Apakah pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dapat meningkatkan kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum Penelitian

Untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* terhadap kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus.

1.3.2 Tujuan Khusus Penelitian

1. Untuk mengetahui peningkatan kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus.
2. Untuk mengetahui dosis ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* yang paling berpengaruh terhadap peningkatan kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan berguna sebagai bahan pembelajaran atau bahan referensi untuk mahasiswa dan tenaga pendidik mengenai diabetes melitus serta diharapkan dapat digunakan sebagai bahan data dasar, bahan referensi dan kajian bagi peneliti lain atau peneliti lanjutan mengenai ekstrak etanol daun dandang gendis.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk mengembangkan dandang gendis sebagai obat herbal yang berpengaruh terhadap kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) adalah kumpulan gangguan metabolisme yang ditandai adanya hiperglikemia. Penyebab keabnormalan DM diantaranya defek pada sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya, dan gangguan metabolisme lemak, protein dan karbohidrat (WHO, 2019).

Secara klinis, klasifikasi diabetes melitus yaitu diabetes melitus tipe satu, diabetes melitus tipe dua, diabetes melitus gestasional, dan diabetes melitus tipe lain. (Wisman dkk, 2016).

1. Diabetes Melitus Tipe 1 (DMT1)

   Diabetes melitus tipe satu dihasilkan dari autoimun sel β pankreas endokrin dapat menyebabkan kondisi defisiensi insulin (Paschou dkk., 2018). Tubuh yang mengalami defisiensi insulin secara drastis menyebabkan sel-sel tidak dapat menghasilkan energi dan tubuh mengalami peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) (Tjandrawinata, 2016). Penghancuran autoimun sel β oleh sel T $CD4^+$, $CD8^+$, dan makrofag dapat ditandai dengan adanya anti asam glutamat dekarboksilase dan antibodi insulin. Kondisi defisiensi insulin menyebabkan pasien DMT1 membutuhkan terapi insulin untuk mempertahankan normoglikemia. Defisiensi insulin menimbulkan gangguan metabolisme diantaranya hilangnya sekresi insulin,

terganggunya fungsi sel α pankreas dan terjadi peningkatan sekresi glukagon (Baynest, 2015).

2. Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2)

Diabetes melitus tipe dua diakibatkan sekresi insulin oleh sel β pankreas yang abnormal dan resistensi insulin oleh sel-sel tubuh (Ozougwu, 2013). Terganggunya transpor glukosa ke sel-sel dan jaringan perifer karena resistensi insulin mengakibatkan peningkatan produksi glukosa oleh organ hati dan jika sel β pankreas tidak dapat mensekresi insulin untuk mengatasi resistensi insulin, maka kedua hal tersebut menyebabkan hiperglikemia (Tjandrawinata, 2016). Diabetes melitus tipe 2 lebih banyak menimbulkan komplikasi karena ketika mengalami hiperglikemia tubuh tidak menimbulkan gejala klinis yang nyata sehingga sering tidak terdiagnosis lebih awal (WHO, 2019).

3. Diabetes Melitus Gestasional (DMG)

Diabetes melitus gestasional adalah intoleransi glukosa yang pertama kali terjadi pada saat kehamilan. Risiko kematian akibat DMG pada ibu dan bayi meningkat. Diabetes melitus gestasional berisiko berkembang menjadi diabetes melitus tipe 2 setelah melahirkan (Firdaus dkk., 2016). Diabetes melitus gestasional ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah selama kehamilan (Kurniawan, 2016). Penyebab DMG yaitu turunnya produksi insulin oleh sel β pankreas akibat peningkatan kebutuhan metabolik dengan membuat sel mengalami hiperplasia dan hipertrofi selama kehamilan (Plow dkk., 2018).

4. Diabetes Melitus Tipe Lain

   Diabetes melitus tipe lain adalah penyakit karena kelainan genetik pada kerja insulin, penyakit pankreas, endokrinopati, kelainan pada sel β, infeksi, karena obat dan sindrom penyakit lain (Kerner & Bruckel, 2014).

2.1.2 Epidemiologi Diabetes Melitus

Diabetes melitus menjadi masalah penting yang dihadapi dunia. *International Diabetes Federation* (IDF) memprediksi adanya peningkatan jumlah penderita DM global dari 9,3% atau 463 juta orang di tahun 2019 menjadi 10,2% atau 578 juta orang pada tahun 2030 dan 10,9% atau 700 juta orang pada tahun 2045 (IDF, 2019). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar memperkirakan penderita DM di Indonesia pada penduduk usia diatas 15 tahun sekitar 8,5% atau sebanyak 14 juta jiwa pada tahun 2018. Riskesdas menyatakan pada tahun 2018 terjadi kenaikan penderita DM sebesar 2,6% dibandingkan pada tahun 2013 (Riskesdas, 2018).

Prevalensi DMT2 mendominasi dibandingkan prevalensi DMT1. Diabetes melitus tipe 2 menyumbang sebanyak (85%) dari total prevalensi DM. Pasien umumnya tidak menyadari penyakit mereka. Sekitar sepertiga pasien DMT2 yang tidak terdiagnosis terutama di negara-negara maju dan lebih dari 75% tidak terdiagnosis di negara-negara berkembang (Forouhi & Wareham, 2019). Berdasarkan data *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2017 menyatakan >96.000 kasus baru DMT1 secara global terdiagnosis pada anak-anak dan remaja berusia <15 tahun tetapi sangat jarang pada tahun pertama kehidupan. Diabetes melitus tipe 1 dapat terus meningkat dengan bertambahnya usia (IDF, 2019).

2.1.3 Faktor Resiko Diabetes Melitus

Faktor resiko DM diantaranya obesitas, pola makan, usia, dan aktivitas fisik. Kelebihan berat badan atau obesitas dapat menginduksi resistensi insulin, obesitas mempercepat penurunan kerja pulau pankreas sehingga memicu DM (Kleinert dkk., 2018). Obesitas menyebabkan terjadinya penimbunan lemak yang tidak normal di jaringan adiposa. Sel-sel lemak akibat obesitas akan melepaskan bahan kimia proinflamasi yang bekerja membuat mekanisme tubuh tidak sensitif terhadap insulin (Y. Parmar, 2018).

Faktor resiko DM lainnya, yaitu mengatur pola makan dapat mempengaruhi kadar insulin glukosa darah. Mengatur pola makan berguna untuk menjaga kadar glukosa darah tetap stabil. Konsumsi karbohidrat sangat mempengaruhi glukosa darah atau menyebabkan kondisi hiperglikemia (Udogadi dkk, 2019). Selain mengatur pola makan, aktivitas fisik yang teratur dapat mempengaruhi sensitivitas insulin otot dan hati, penyerapan dan pemanfaatan glukosa otot, serta peningkatan kontrol glikemik pada pasien DM. Dengan berolahraga singkat dan kuat, tubuh sudah mampu untuk mengelola kadar glukosa darah dan resistensi insulin namun dapat hilang setelah 48 jam sampai 72 jam (Fareed, 2017).

2.1.4 Patofisiologi Diabetes Melitus

2.1.4.1 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes melitus tipe satu disebabkan oleh autoimun sel β pankreas sehingga terjadi penurunan produksi insulin atau disebut defisiensi insulin. Defisiensi insulin mengakibatkan gangguan metabolisme tubuh. Defisiensi

insulin menyebabkan peningkatan kadar glukagon, mengakibatkan

peningkatan defek metabolik. Ketoasidosis diabetik tanpa pemberian insulin merupakan salah satu gangguan metabolisme. Defisiensi insulin juga dapat menyebabkan lipolisis yang tidak terkendali dan memicu kenaikan asam lemak bebas didalam plasma. Efek lipolisis pada jaringan perifer seperti otot rangka yaitu terjadi peningkatan metabolisme glukosa. Defisiensi insulin berpengaruh menurunkan sensitivitas insulin dengan menurunkan ekspresi GLUT 4 transporter glukosa di jaringan adiposa dan sejumlah gen glukokinase di hepar.

Diabetes melitus tipe satu yang tidak terkontrol mengakibatkan peningkatan sekresi glukosa hepar. Proses glukoneogenesis hati digunakan untuk memproduksi glukosa. Penurunan tingkat fosforilasi glukosa dalam sel hepatosit menyebabkan peningkatan transpor glukosa ke darah. Kombinasi peningkatan produksi glukosa hepatik dan peningkatan transport glukosa ke darah menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) (Ozougwu, 2013).

2.1.4.2 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2

Salah satu faktor risiko yang memicu DMT2 yaitu obesitas. Peningkatan asupan lemak, konsumsi gula, dan penurunan asupan serat memicu terjadinya obesitas dan menginduksi terjadinya resistensi insulin atau penurunan toleransi glukosa (Ozougwu, 2013). Pada pasien obesitas terjadi peningkatan trigliserida (TG) intrasel pada jaringan otot dan hati akibat penyimpanan asam lemak bebas atau *free fatty acid* (FFA). Adanya TG intrasel dan FFA dapat menekan pensinyalan insulin yang mengakibatkan resistensi insulin.

Resistensi insulin adalah kondisi penurunan sensitivitas jaringan (otot, hati dan adiposit) terhadap insulin (Hall, 2011). Penurunan respon jaringan hati, otot dan adiposit menyebabkan sel β pankreas meningkatkan mensekresi insulin. Konsentrasi insulin plasma yang meningkat disebut hiperinsulinemia. Peningkatan kerja sel β pankreas dalam jangka waktu yang lama mengakibatkan kelelahan sel β pankreas sehingga fungsi sel β pankreas turun. Dampak turunnya fungsi sel β pankreas menyebabkan defisiensi insulin yang mengakibatkan tubuh mengalami hiperglikemia (Handayani dkk., 2013). Defisiensi insulin dan resistensi insulin secara sistemik semakin menginduksi terjadinya DMT2 (Galicia-Garcia dkk., 2020).

2.1.5 Manifestasi Klinis Diabetes Melitus

Manifestasi klinis diabetes melitus diantaranya:

1. Polifagia (banyak makan)

   Ketika hiperglikemia, glukosa didalam darah meningkat namun tidak mampu ditranspor ke sel-sel tubuh untuk menghasilkan energi sehingga tubuh melepaskan hormon lapar yaitu kortisol dan ghrelin untuk meningkatkan nafsu makan.

2. Polidipsi (banyak minum)

   Output urine meningkat pada penderita diabetes melitus menyebabkan dehidrasi. Ketika dehidrasi memicu rasa haus tetapi sulit terpuaskan karena produksi urine meningkat serta cepat dikeluarkan.

3. Poliuria (sering kencing)

   Kondisi hiperglikemia pada penderita DM menyebabkan glukosa darah menumpuk di tubulus ginjal sehingga terjadi reaksi osmosis untuk

menarik air masuk ke tubulus ginjal akhirnya produksi urin meningkat. *Output* urin pada orang normal sekitar 1,8 liter tetapi pada penderita DM meningkat lebih dari 3 liter.

4. Penurunan berat badan

   Penurunan berat badan lima sampai kilogram dalam kurun waktu dua sampai empat minggu tetapi nafsu makan tetap atau bertambah (Fatimah, 2015). Peningkatan metabolisme lipid dan protein menyebabkan penderita diabetes melitus mengalami penurunan berat badan secara drastis.

5. Mudah lelah

   Ketika hiperglikemia, kurangnya sel-sel otot mendapatkan glukosa untuk digunakan sebagai sumber energi menyebabkan penderita diabetes melitus mudah mengalami kelelahan (Knight, 2017).

2.1.6 Komplikasi Diabetes Melitus

Menurut Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI), komplikasi diabetes melitus terbagi menjadi dua, yaitu komplikasi akut dan kronis. Komplikasi akut diantaranya ketoasidosis diabetik (KAD) yaitu kadar glukosa darah yang tinggi sebesar 300-600 mg/dL dengan ada atau tidaknya plasma keton (+) dan gejala asidosis; hiperosmolar non ketotik (HNK) yaitu kadar glukosa darah sangat tinggi sebesar 600-1200 mg/dL, tanpa tanda dan gejala asidosis; hipoglikemia merupakan kondisi penurunan kadar glukosa darah < 60 mg/dL (PERKENI, 2015).

Komplikasi kronis DM terbagi dua, yaitu komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler. Komplikasi makrovaskuler diantaranya penyakit jantung koroner, pembekuan darah otak, stroke dan gagal jantung kongestif. Komplikasi mikrovaskuler diantaranya neuropati, nefropati, amputasi dan diabetik retinopati (Fatimah, 2015).

2.2 Komplikasi Diabetes Melitus pada Hepar

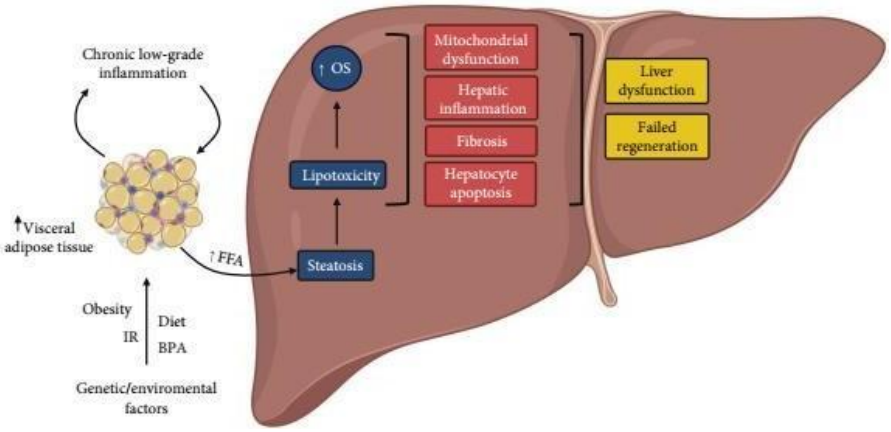
Organ tubuh yang dapat dipengaruhi DM adalah hepar. Hepar memiliki peran sebagai organ detoksifikasi. Hepar sangat sensitif terhadap bahan toksik salah satunya *reactive oxygen species* (ROS). Pada kondisi DM terjadi peningkatan ROS dari induksi hiperglikemia. Hiperglikemia mampu mempengaruhi gangguan metabolisme lipid, protein, dan karbohidrat yang dapat meningkatkan stress oksidatif, kaskade inflamasi stres oksidatif serta respon inflamasi yang memperburuk kondisi patologis DM. Peningkatan stres oksidatif dan kaskade inflamasi stres oksidatif menyebabkan komplikasi DM pada organ hepar, beberapa penyakit hepar yaitu *hepatocellular carcinoma* (HCC), fibrosis, *steatohepatitis non-alcohol* (NASH), dan *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) (Mohamed dkk., 2016).

Prevalensi penyakit hepar tertinggi pada pasien DM berdasarkan data global adalah NAFLD sebanyak 55,5% (Younossi dkk., 2019). Indonesia menjadi negara dengan prevalensi NAFLD tertinggi se-Asia Tenggara sebanyak 30% dengan terjadinya peningkatan kasus sekitar 0,5-1% setiap tahunnya di RSUP dr. Kariadi Semarang (Medina dkk., 2018). Berdasarkan penelitian di Rumah Sakit Bangladesh pasien memiliki riwayat pre-diabetes dan diabetes melitus lebih berisiko mengalami penyakit hepar. Hal ini didukung dengan adanya patofisiologi seperti resistensi insulin, akumulasi

trigliserida dalam hati, inflamasi dan kondisi obesitas (Setiono dkk., 2022).

Penelitian yang dilakukan Ramadan dkk. (2022) mengatakan bahwa hubungan DM dengan penyakit hepar yaitu akibat terjadinya mekanisme peningkatan pemecahan glikogen menjadi glukosa akibat resistensi insulin dan gangguan *transport* glukosa ke sel menyebabkan hiperglikemia serta di dukung adanya penyimpanan trigliserida dalam jangka waktu yang panjang menyebabkan stress oksidatif pada organ hepar. Kondisi DM yang di dukung oleh beberapa faktor risiko diatas dapat memicu gangguan pada hepar.

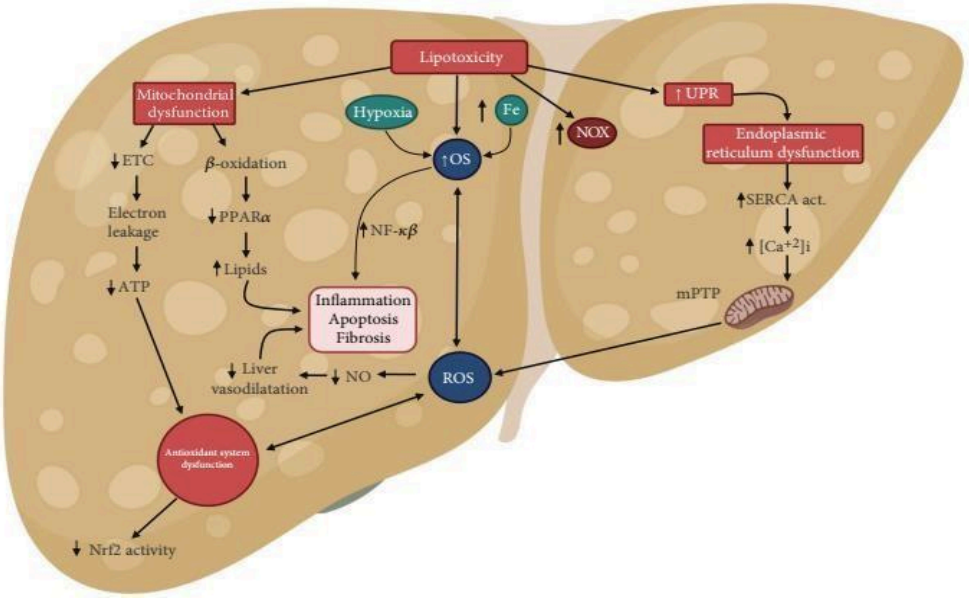
Menurut penelitian Targher dkk. (2021) DM terutama DMT2 merupakan faktor risiko yang memicu perkembangan NAFLD lebih cepat. Penyakit steatosis hati disebabkan akumulasi lemak hati ≥5% akibat penyebab sekunder seperti konsumsi alkohol berlebihan, pengobatan steatogenik, atau kelainan herediter. Peningkatan prevalensi NAFLD juga dipengaruhi faktor resiko seperti obesitas, diabetes melitus tipe dua, hiperlipidemia (Younossi dkk., 2019). Meskipun NAFLD sangat terkait dengan obesitas, resistensi insulin, dan DMT2, namun banyak orang dengan NAFLD tidak mengalami obesitas dan banyak orang dengan NAFLD tidak menderita DMT2 (Byrne & Targher, 2015). Jadi kesimpulan yang dapat diambil yaitu DM merupakan salah satu faktor risiko yang dapat memicu terjadinya penyakit hepar. Diabetes melitus dapat menyebabkan penyakit hepar jika berakumulasi dengan faktor risiko penyakit hepar lainnya. Penyakit hepar seperti NAFLD tidak disebabkan oleh komplikasi DM secara langsung.



Gambar 2.1 Patofisiologi NAFLD pada Diabetes Melitus (Gonzalez dkk., 2020).

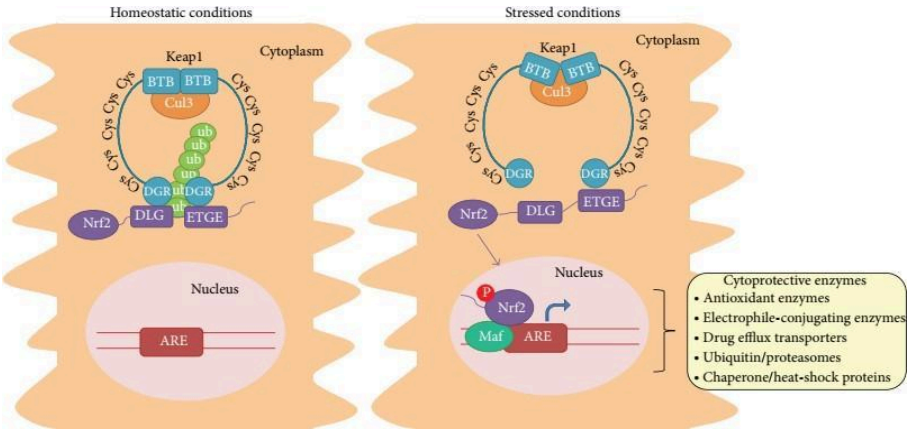
Mekanisme NAFLD terjadi pada pasien DM dapat dilihat pada Gambar 2.1. Patofisiologi NAFLD pada penderita DM dapat disebabkan oleh faktor genetik, diet, faktor lingkungan dan bisphenol A (BPA), yang menyebabkan obesitas dan resistensi insulin (IR). Peningkatan jaringan adiposa berkontribusi meningkatkan mobilisasi FFA, menghasilkan deposisi lemak visceral dan ektopik. Pada NAFLD, salah satu perubahan utama adalah steatosis (perlemakan) hati. Dengan demikian, meningkatnya FFA menyebabkan steatosis, yang meningkatkan kadar TG intrahepatik. Peningkatan lipid yang signifikan di dalam hati ini menghasilkan lipotoksisitas dan stres oksidatif. Stres oksidatif dan lipotoksisitas menginduksi disfungsi mitokondria, apoptosis hepatosit, dan peradangan hati, meningkatkan faktor profibrotik yang berkontribusi terhadap fibrosis hati. Di samping itu, ada upaya yang gagal untuk meregenerasi hati. Bersama-sama, gangguan metabolisme

lipid, peningkatan sitokin proinflamasi, dan stress oksidatif dapat menginduksi disfungsi hati yang mendukung perkembangan NAFLD (Gonzalez dkk., 2020).



Gambar 2.2 Pengaruh Stres Oksidatif pada Jaringan Hati Selama NAFLD (Gonzalez dkk., 2020).

Stres oksidatif merupakan faktor utama penyebab NAFLD karena stres oksidatif menginduksi penurunan sistem antioksidan, disfungsi mitokondria, dan peningkatan *unfolded protein response* (UPR) oleh stress retikulum endoplasma (ER). Peningkatan stres oksidatif dapat disebabkan oleh peningkatan zat besi dan hipoksia. Lipotoksisitas dapat secara langsung menginduksi stres oksidatif dan menginduksi kerusakan organel seperti disfungsi mitokondria dan ER. Penurunan β-oksidasi mengakibatkan penurunan aktivitas *peroxisome proliferator activated receptor alpha* (PPARα), meningkatkan kadar lipid intrahepatik dan menginduksi



peradangan hati. Pada saat yang sama, oksidasi fosfolipid di membran mitokondria menurunkan rantai transpor elektron (ETC) yang meningkatkan kebocoran elektron, mengurangi adenosin trifosfat (ATP) dan menghasilkan disfungsi sistem antioksidan yang ditandai turunnya aktivitas *nuclear factor-(erythroid- derived 2)* (Nrf2). Mekanisme disfungsi mitokondria ini meningkatkan stres oksidatif. Disisi lain lipotoksisitas menginduksi peningkatan UPR menyebabkan disfungsi RE. Disfungsi RE meningkatkan aktivitas Sarco/*endoplasmic reticulum* Ca^{2+}*-ATPase* (SERCA) dan kadar *intracellular* Ca^{2+} (Ca^{2+}i), yang menyebabkan pembukaan *mitochondrial permeability transition pore* (mPTP), menyebabkan peningkatan produksi ROS. Peningkatan ROS menyebabkan penurunan kadar oksida nitrat (NO), menyebabkan penurunan vasodilatasi hati. Semua mekanisme peningkatan produksi ROS, meningkatkan stres oksidatif di jaringan hati yang menyebabkan peradangan, apoptosis hepatosit, dan fibrosis selama perkembangan NAFLD (Gonzalez dkk., 2020).

Gambar 2.3 Aktivasi Jalur Keap1-Nrf2-ARE pada Kondisi Homeostatik dan Kondisi Stress (Chambel dkk., 2015).

Peningkatan stres oksidatif menyebabkan sel intrahepatik mengalami kondisi stress. Berikut mekanisme sel pada kondisi homeostatik dan kondisi stress dapat dilihat pada Gambar 2.3. Pada kondisi homeostatik Keap 1 melakukan homodimerisasi pada domain BTB yang berfungsi mengikat *cullin 3* (Cul3). Homodimer Keap 1 yaitu *double glycine repeats* (DGR) mengikat 1 Nfr2 melalui motif ETGE dan DLG. Keap1 berfungsi menghasilkan *poliubiquitinasi* (Ub) yang terletak di antara motif ETGE dan DLG. Pada kondisi stress, terjadi modifikasi *residu sistein* (Cys)

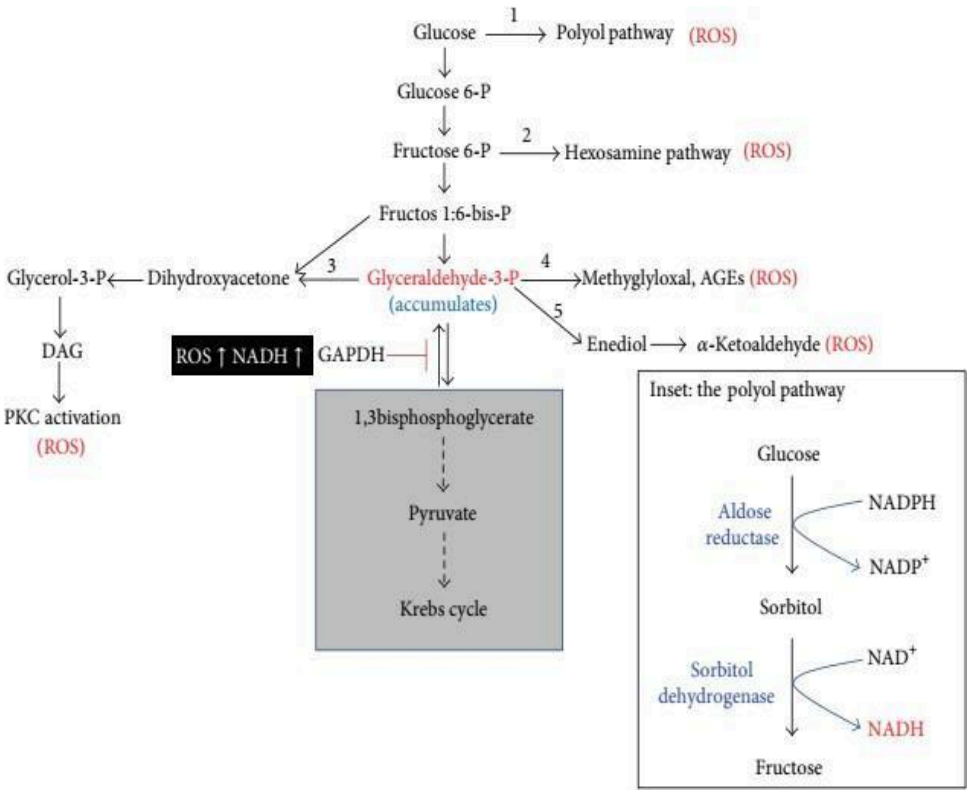
menyebabkan gangguan ikatan Keap 1 yaitu DGR dengan motif DGL. Sehingga Nrf2 tidak dikontrol oleh Keap 1 dan translokasi ke dalam nukleus. Didalam nukleus Nrf2 mengalami heterodimerisasi dengan protein Maf sehingga mengekspresikan gen yang mengandung *antioxidant response elements* (ARE), berfungsi untuk mengkode enzim antioksidan untuk meningkatkan pelepasan antioksidan. *Antioxidant response elements* mengaktivasi antioksidan seperti katalase (CAT) dan *superoxide dismutase* (SOD) (Chambel dkk., 2015). Penginduksian produksi SOD oleh Nrf2 dan ARE tidak dapat mengkompensasi peningkatan produksi ROS sehingga kadar SOD menurun (Ighodaro & Akinloye, 2018).

2.3 Stres Oksidatif pada Diabetes Melitus

Hiperglikemia menginduksi produksi radikal bebas dengan mengaktif beberapa jalur alternatif metabolisme glukosa. Radikal bebas adalah kimia reaktif yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, memiliki sifat yang tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas memicu perubahan fungsi seluler dengan mengikat elektron yang tidak berpasangan sehingga terjadi oksidasi komponen dan molekul sel. Terdapat dua jenis radikal bebas,

yaitu *reactive nitrogen species* (RNS) dan *reactive oxygen species* (ROS) (Asmat dkk., 2016). *Reactive oxygen species* dihasilkan secara endogen (terbentuk dari metabolisme normal tubuh) dan eksogen (terbentuk dari radiasi ultraviolet, obat, polusi udara dan asap rokok) (Kusbandari & Susanti, 2017). Kondisi hiperglikemia dapat memicu pembentukan ROS secara berlebihan melalui beberapa perubahan patologis yaitu inflamasi, stress oksidatif dan disfungsi mitokondria. Mekanisme hiperglikemia menginduksi

pembentukan ROS digambarkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Mekanisme Hiperglikemia Menginduksi Peningkatan Produksi ROS (Yan, 2014).

2.3.1 Jalur Poliol

Jalur poliol adalah reaksi pertama metabolisme glukosa. Jalur poliol berfungsi mengubah glukosa menjadi sorbitol dengan bantuan enzim *aldose reductase* (AR) dengan memanfaatkan *nukleotida adenin dinukleotida fosfat* (NADPH). Kemudian enzim *sorbitol dehydrogenase* (SD) mengubah sorbitol menjadi fruktosa, hasil konversi ini membentuk *nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen* (NADH) dari *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD). Fungsi utama NADPH adalah memediasi *glutathione reductase* yang bersamaan diikuti dengan produksi *nitric oxide* (NO) (Garg & Gupta, 2022). *Glutathione reductase* membutuhkan NADPH untuk meregenerasi GSSG (bentuk glutation teroksidasi) menjadi glutation tereduksi (GSH). Saat tingkat GSH turun, kapasitas antioksidan juga menurun, menghasilkan peningkatan

ROS yang dapat menyerang dan menginduksi kerusakan oksidatif (Yan, 2014).

2.3.2 Jalur Heksosamin

Jalur ini dari fruktosa 6-fosfat dalam jalur glikolitik diubah menjadi fruktosa 1:6-bis-fosfat oleh enzim glutamine fructose 6-P amidotransferase (GFAT), membuat glukosamin 6-P dari fruktosa 1:6-bis-P selanjutnya diubah menjadi UDP-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) yang merupakan substrat spesifik O linked N acetylglucosamine (O-GlcNAc) yang mengkatalisis protein. Pada kondisi hiperglikemia terjadi peningkatan aktivitas GFAT menghasilkan peningkatan O-GlcNAc, yang mengaktifkan *aldose reductase* untuk memperkuat produksi ROS mengarah ke stress oksidatif (Panigrahy dkk., 2017).

2.3.3 Jalur Aktivasi Protein Kinase C

Jalur ini terurai menjadi dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehida 3-fosfat. Pembentukan gliseraldehida 3-fosfat akibat aksi triosa fosfat isomerase. Akumulasi gliseraldehida 3-fosfat dapat meningkatkan sintesis *diacyglycerol* (DAG) yang merupakan aktivator protein kinase C (PKC). Protein kinase C berfungsi memfosforilasi berbagai protein target. Kondisi hiperglikemia mengaktifkan PKC dengan menginduksi DAG. PKC mengaktifkan NADPH dengan memfosforilasi komponen sitosolnya seperti p47phox. Aktivasi NADPH mengaktifkan Na^+ -H^+ exchanger (NHE). Aktivasi NHE berperan meningkatkan Ca^{2+} intracellular $[Ca^{2+}]_i$, yang memfosforilasi calmodulin dependent protein kinase (CaMKII) dan mengaktifkan NADPH oksidase untuk menghasilkan lebih banyak ROS (Panigrahy dkk., 2017).

2.3.4 Jalur Glikasi atau *Advanced Glycation End Products* (AGEs)

Advanced glycation endproducts (AGEs) adalah senyawa toksik yang terbentuk dari reaksi Maillard. Reaksi Maillard merupakan reaksi antara gugus amino bebas dari protein, amino fosfolipid atau asam nukleat dengan karbonil dari glukosa pereduksi menghasilkan basa Schiff. Basa Schiff kemudian diubah menjadi produk Amadori. Produk Amadori membentuk 1,2-dikarbonil seperti *methylglyoxal* (MGO) atau membentuk 2,3-dicarbonyl seperti 1- deoxyglucosone (1 -DG). Produk Amadori memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk membentuk AGEs. Pada keadaan hiperglikemia terjadi penghambatan GADPH menyebabkan akumulasi gliseraldehida-3-fosfat dan membentuk MGO, kemudian MGO menghasilkan AGEs. *Advanced glycation endproducts*

akan berikatan dengan reseptornya (RAGE) dan mengaktifkan NADPH oksidase yang memfasilitasi produksi ROS (Cepas dkk., 2020).

2.3.5 Jalur Autooksidasi Gliseraldehida

Jalur ini bercabang dari akumulasi gliseraldehida 3-fosfat di jalur glikolitik. Gliseraldehida 3-fosfat terbentuk dari fruktosa 1;6 bifosfat oleh enzim aldose. Selanjutnya gliseraldehida 3-fosfat dapat mengalami autooksidasi membentuk glukosa enediol yang dapat dioksidasi menjadi anion radikal enediol. Anion radikal enediol dapat diubah menjadi ketoaldehida dan radikal anion superoksida yang menyebabkan produksi ROS seperti radikal hidroksil yang sangat reaktif atau radikal peroksinitrit (Wojnar

dkk., 2020).

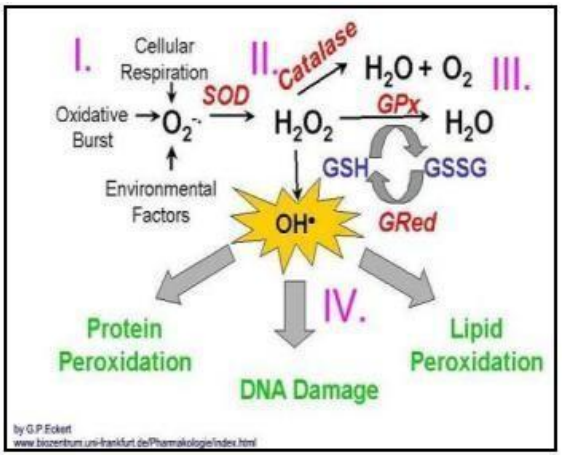
2.4 Antioksidan pada Diabetes Melitus

Antioksidan adalah mekanisme pertahanan tubuh untuk menetralkan atau menghancurkan radikal bebas di dalam tubuh sebelum terjadi kerusakan sel (Gupta, 2015) dan menghambat proses oksidasi. Antioksidan pada penderita diabetes melitus bekerja dengan merusak ikatan rantai radikal bebas dengan menambahkan atau menghilangkan satu elektron (Andarina & Djauhari, 2017). Antioksidan berdasarkan sumbernya diklasifikasikan menjadi dua, diantaranya antioksidan endogen dan antioksidan eksogen.

1. Antioksidan Endogen

   Antioksidan endogen berfungsi menghilangkan reaksi oksidan. Reaksi oksidan yang tidak dapat dinetralkan oleh antioksidan menyebabkan stres oksidatif (Handajani, 2019). Kelompok antioksidan endogen yang utama yaitu *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), dan *glutation peroksidase* (GPx). Enzim-enzim tersebut memiliki fungsi untuk mengurangi

   kandungan oksidatif dan mencegah kerusakan akibat reaksi oksidatif (Haerani dkk., 2018).



Gambar 2.5 Mekanisme Antioksidan Endogen (Werdhasari Asri, 2014)

a. *Superoksida dismutase* (SOD) berfungsi mengkatalisis dismutasi dua molekul anion superoksida (HAI_2) diubah membentuk hidrogen peroksida (H_2HAI_2) dan molekul oksigen (O_2), akibatnya membuat anion superoksida yang berbahaya menjadi kurang berbahaya bagi tubuh (Ighodaro & Akinloye, 2018). *Superoksida dismutase* mengubah radikal peroksida (O_2^-) yang bersumber dari faktor lingkungan dan respirasi seluler menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2), yang masih reaktif.

b. *Catalase* (CAT) melakukan katalisis peroksida dengan menggunakan satu elektron donor yaitu molekul H_2O_2 dan satu akseptor seperti molekul H_2O_2 sehingga terdapat dua molekul H_2O_2. Pada eritrosit dan jaringan lain dua molekul H_2O_2 membentuk 2 H_2O dan O_2.

c. *Glutation peroksidase* (GPx) juga sebagai katalisis peroksida H_2O_2 dan lipid hidroperoksida dengan menggunakan glutation tereduksi (GSH) untuk menjaga lipid membran dan hemoglobin dari serangan oksidasi H_2O_2, sehingga tidak terjadi hemolisis akibat peroksida.

H_2O_2 yang tidak membentuk H_2O dapat diubah menjadi radikal hidroksil reaktif (OH). Radikal hidroksil bersifat berbahaya dan reaktif jika bereaksi dengan logam karena dapat mengakibatkan kerusakan sel akibat peroksidasi lipid, DNA dan protein yang bersifat reaktif dan berbahaya (Werdhasari Asri, 2014).

2. Antioksidan Eksogen

Antioksidan eksogen terbagi menjadi dua, yaitu antioksidan buatan dan antioksidan dari tumbuhan. Antioksidan buatan didapatkan dari sintesa reaksi kimia, sedangkan antioksidan dari tumbuhan didapatkan dari ekstraksi tumbuh-tumbuhan. Contoh antioksidan buatan yang banyak digunakan, seperti *butil hidroksi anisol* (BHA), *butil hidroksil toluen* (BHT), propil galat. Untuk antioksidan dari tumbuhan dapat diambil dari tumbuh-tumbuhan yang mengandung banyak antioksidan untuk menetralisir stres oksidatif akibat paparan sinar matahari dan oksigen. Menggunakan antioksidan dari tumbuhan dapat menurunkan risiko penyakit kanker, kardiovaskuler, dan diabetes (Haerani dkk., 2018). Contoh antioksidan alami seperti senyawa polifenolik atau fenolik merupakan golongan flavonoid, kumarin, tokoferol (Simanjuntak & Zulham, 2020).

2.5 *Superoxide Dismutase* (SOD) pada Diabetes Melitus

Kondisi hiperglikemia pada DM dapat memicu pembentukan ROS secara berlebih melalui beberapa metabolisme glukosa (Yan, 2014). Pembentukan ROS menimbulkan kondisi stres oksidatif. Untuk menetralkan ROS, mekanisme tubuh merespon dengan mengeluarkan antioksidan sebagai pertahanan tubuh. Ketidakseimbangan antioksidan dan radikal bebas di dalam tubuh menyebabkan stres oksidatif (Andarina & Djauhari, 2017).

Untuk mengatasi stress oksidatif dibutuhkan enzim detoksifikasi seperti *Superoxide dismutase* (SOD), merupakan pertahanan lini pertama untuk melawan *reactive oxygen species* (ROS). Superoksida dismutase adalah *metalloenzyme*, membutuhkan kofaktor logam untuk aktivitasnya. Ion logam yang biasanya berikatan dengan SOD adalah tembaga (Cu), mangan (Mn), besi (Fe) dan seng (Zn). Fungsi SOD adalah menjaga sel tubuh dari dampak

radikal oksigen yang tinggi, radikal bebas dan senyawa-senyawa berbahaya yang menyebabkan kematian sel serta menjaga kesehatan sel (Ighodaro & Akinloye, 2018). Superoksida dismutase bekerja dengan mengkonversi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida yang tidak reaktif kemudian dengan katalase, hidrogen peroksida didegradasikan menjadi oksigen dan air (Andarina & Djauhari, 2017).

Superoksida adalah senyawa berbahaya dan berperan penting terhadap patogenesis diabetes melitus. Antioksidan terbanyak didalam tubuh adalah SOD. Superoksida dismutase mampu mengubah superoksida menjadi senyawa yang tidak berbahaya atau kurang toksik dengan memecah molekul oksigen

yang memiliki potensi bahaya jika berada di dalam sel sehingga mengurangi efek toksik senyawa tesebut (Tiwari dkk, 2013).

Antioksidan kuat yang berada di dalam organ hepar salah satunya adalah SOD yang berfungsi melindungi sel-sel hati dari kerusakan oksidatif dan menetralisir radikal bebas. Pada keadaan hiperglikemia, *reactive oxygen species* (ROS) ditingkatkan yang mengakibatkan penurunan aktivitas Nrf2, sehingga menginduksi antioksidan endogen seperti SOD. Kombinasi peningkatan pelepasan ROS dan penurunan aktivasi SOD menyebabkan kerusakan hati yang diinduksi stres oksidatif (Mohamed dkk., 2016).

Sel pankreas rentan terhadap pembentukan ROS dan stres oksidatif sehingga mengganggu aktivitas enzim antioksidan terutama *catalase* (CAT), *superoxide dismutase* (SOD), *glutation peroksidase* (GPx) menyebabkan konsentrasi enzim tersebut sangat rendah terutama di jaringan perifer, hati

dan adiposit. Stres oksidatif di pankreas diinduksi oleh hiperglikemia. Dampak stres oksidatif yang terbentuk di pankreas adalah menginduksi peradangan pankreas sehingga menekan fungsi *insulin receptor substrate* (IRS1). *Insulin receptor substrate* satu merupakan mediator utama pensinyalan insulin di hati, yang mengontrol sensitivitas insulin (Tilg dkk., 2017).

SOD dapat diklasifikasikan menjadi 3 jenis, yaitu:

1. SOD 1 (Cu/Zn-SOD)

   Superoksida dismutase satu (SOD 1) berada di sitoplasma intraseluler dan mengandung tembaga dan seng (Danastri & Indriawati, 2020). Superoksida dismutase satu memiliki kerja untuk mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida. Ketika terjadi kenaikan ROS maka SOD 1

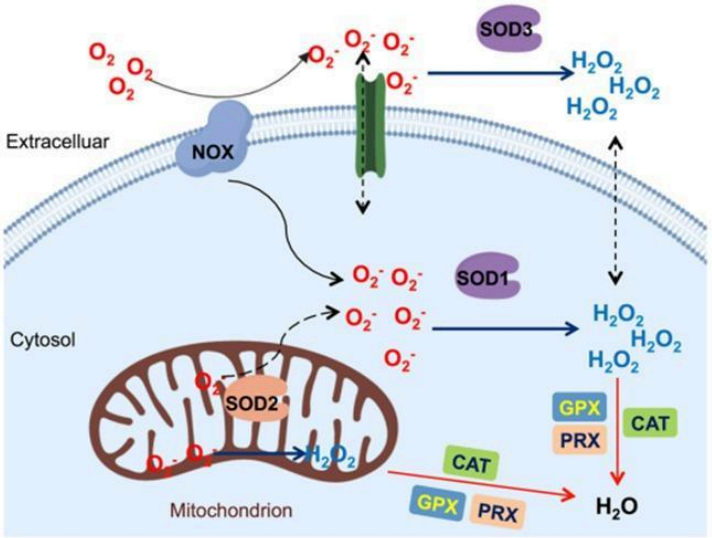
   memberikan persinyalan oksidatif, SOD 1 dengan cepat berpindah ke dalam nukleus untuk menjaga kestabilan genom (Simanjuntak & Zulham, 2020).

2. SOD 2 (Mn-SOD)

   Superoksida dismutase dua (SOD 2) berada di mitokondria dan mengandung mangan (Danastri & Indriawati, 2020). Superoksida dismutase dua memiliki kerja menangkap dan mengubah radikal bebas menjadi zat yang kurang reaktif di dalam sel (Simanjuntak & Zulham, 2020).

3. SOD 3 (EC-SOD)

Superoksida dismutase tiga (SOD 3) berada di ekstraseluler dan mengandung tembaga dan seng (Danastri & Indriawati, 2020). Superoksida dismutase tiga bekerja di permukaan sel dan berguna menjaga sel dari efek stres oksidatif (Kim dkk, 2014). Superoksida dismutase tiga merupakan enzim antioksidan yang berperan sebagai pertahanan antioksidan utama terhadap penyakit pembuluh darah, kardiovaskular, penyakit neurologis, penyakit paru-paru, aterosklerosis, diabetes, hipertensi, dan kondisi inflamasi (Simanjuntak & Zulham, 2020).



Gambar 2.6 Lokasi SOD pada Sel Manusia (Nguyen dkk., 2020)

2.6 Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*)

2.6.1 Tinjauan Umum

Dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) adalah tumbuhan tropis. Spesies tanaman ini tersebar di Indonesia, Malaysia, Afrika, Brazil, dan Amerika Tengah. Tumbuhan ini dapat tumbuh di habitat seperti hutan lebat, semak

belukar, ladang, lembah yang lembab, pantai dan rawa

(Alam dkk., 2016). *Clinacanthus nutans* di beberapa daerah Indonesia dikenal dengan nama lain seperti dandang gendis (Jawa Tengah), ki oray dan ki tajam (Sunda) (Permadi, 2013). Masyarakat Indonesia memanfaatkan *Clinacanthus nutans* sebagai obat tradisional karena pengetahuan mengenai penggunaan bahan-bahan alam berdasarkan pengalaman dan keterampilan yang diwariskan turun-temurun (Wijaya dkk., 2019). Pemanfaatan daun *Clinacanthus nutans* secara tradisional dengan cara merebus 7 – 12 lembar daun menggunakan dua gelas air sampai air berkurang mencapai satu gelas kemudian diminum dua kali sehari sebagai obat alternatif diabetes (Alam dkk., 2016)

2.6.2 Taksonomi dan Morfologi

Berikut ini adalah taksonomi dari tumbuhan dandang gendis

Kingdom : Plantae

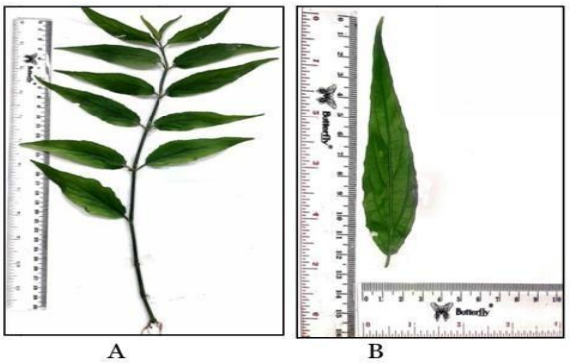
Divisi : Spermatophyte,

Subdivisi : Angiospermae

Famili : *Acanthaceae*

Genus : *Clinacanthus*

Spesies : *Clinacanthus nutans* (Retnaningsih dkk., 2017).



Gambar 2.6 Tanaman Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*)

(Deti Andasari dkk., 2020).

Dandang gendis merupakan tumbuhan yang memiliki ciri fisik tinggi sekitar 2,5 meter. Dandang gendis mempunyai batang yang tegak, bewarna hijau dan beruas. Daunnya yang berbentuk tunggal, saling berhadapan, berbentuk tulang menyirip dan berwarna hijau. Panjang daun dandang gendis berkisar 8 – 12 cm dengan lebar berkisar 4 - 6 cm. Dandang gendis memiliki bunga yang tumbuh di ujung batang. Mahkota daunnya berbentuk tabung, panjangnya 2 – 3 cm dan berwarna merah muda (Cahyani dkk., 2021).

2.6.3 Kandungan Senyawa Fitokimia Daun Dandang Gendis

Daun *Clinacanthus nutans* memiliki beberapa senyawa fitokimia penting (Alam dkk., 2017). Untuk menentukan fitokimia yang terkandung di dalam daun *Clinacanthus nutans* maka dilakukan beberapa penelitian oleh peneliti sebelumnya, berikut diantaranya dapat terlihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Fitokimia Ekstrak Daun *Clinacanthus.nutans*

Senyawa Fitokimia	Referensi
Flavonoid, triterpenoid, dan tanin	(Nurulita dkk., 2007)
Flavonoid, fenol, tanin, quinon, dan triterpenoid	(Widayat & Setyahadi, 2022)
Flavonoid, tanin, dan saponin	(Deti Andasari dkk., 2020)

Flavonoid dan tanin	(Abdullah N & Kasim K F, 2017)

Dari beberapa senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak daun *Clinacanthus nutans*, flavonoid merupakan senyawa bioaktif utama pada *Clinacanthus nutans* (Alam dkk., 2016). Flavonoid adalah antioksidan yang dapat larut dalam air dan berfungsi sebagai penangkal radikal bebas, mencegah aktivitas kanker dan mencegah kerusakan sel oksidatif. Flavonoid memiliki efek biokimia berguna menghambat beberapa enzim seperti aldosa reduktase, xantin oksidase, fosfodiesterase, ATPase, *lipoxygenase*, dan *cyclooxygenase* (Jain dkk., 2019).

2.6.4 Aktivitas Farmakologi Daun *Clinacanthus nutans*

Tanaman *Clinacanthus nutans* merupakan tanaman herbal karena dapat dimanfaatkan untuk pengobatan (Tambaru dkk., 2019). Daun *Clinacanthus nutans* memiliki aktivitas farmakologis, yaitu berperan dalam antioksidan, antikanker, dan antiinflamasi (Andasari dkk., 2020).

a. Antidiabetes

Senyawa flavonoid pada *Clinacanthus nutans* berperan sebagai antidiabetes. Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan Widayat & Setyahadi (2022) menguji aktivitas enzim alfa amilase, nilai IC_{50} ekstrak *Clinacanthus nutans* sebesar 2,42 mg/ml menandakan *Clinacanthus nutans* mampu menghambat kerja enzim alfa amilase. Enzim alfa amilase bekerja menghasilkan glukosa dengan menghidrolisis pati. Penghambatan

Kedua dosis ekstrak aqueous daun *Clinacanthus nutans* menyebabkan glukosa darah puasa tikus turun. Pada dosis 200 mg menunjukkan hasil yang lebih baik dari pengobatan quercetin. Kapasitas antioksidan

total hati, ginjal, saraf, dan lensa pada tikus yang diobati juga sebanding dengan pengobatan quercetin. Tingkat sorbitol, reduktase aldose, dan aktivitas sorbitol dehidrogenase di ginjal, lensa, dan saraf siatik ditingkatkan oleh ekstrak air daun *Clinacanthus nutans* ke tingkat yang sebanding dengan kelompok quercetin.

b. Antioksidan

Fitokimia ekstrak daun *Clinacanthus nutans* salah satunya memiliki senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan alami atau menangkap radikal bebas (Widayat & Setyahadi, 2022). Mekanisme antioksidan senyawa flavonoid dibagi menjadi dua, yaitu secara langsung dan tidak langsung. Mekanisme secara langsung flavonoid dengan melepaskan atom hidrogennya untuk bereaksi bersama radikal bebas sehingga stress oksidatif tidak menyebabkan apoptosis sel (Panche dkk., 2016). Mekanisme secara tidak langsung yaitu flavonoid bekerja dengan meningkatkan antioksidan endogen. Mekanisme meningkatkan antioksidan endogen dengan mengaktifkan *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) menyebabkan peningkatan gen untuk sintesis antioksidan endogen seperti superoxide dismutase (SOD) (Shinta & Kusuma, 2015).

Senyawa tanin memiliki fungsi sebagai antioksidan primer (bekerja secara langsung) dan antioksidan sekunder (bekerja secara tidak langsung). Sebagai antioksidan primer dengan menyumbangkan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas untuk mencegah stress oksidatif. Tanin bekerja dengan mengikat ion logam seperti besi (Fe) dan mengganggu reaksi fenton sehingga menghambat oksidasi (Amarowicz, 2007). Selain senyawa tanin terdapat senyawa alkaloid

yang memiliki fungsi sebagai antioksidan. Alkaloid memiliki kerja yang sama dengan tanin yaitu menyumbangkan hidrogen pada radikal bebas. Alkaloid hanya bekerja sebagai antioksidan primer (Kurniati, 2013).

c. Antikanker

Senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak *Clinacanthus nutans* seperti senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin (Situmeang dkk., 2016) dapat dimanfaatkan untuk pengobatan kanker seperti kanker perut, payudara, usus besar, limfoma dan melanoma (Goswami, 2017). Senyawa metabolit *Clinacanthus nutans* memiliki kerja sebagai *antineoplastic* dan menekan proliferasi sel kanker dengan menginduksi apoptosis sel kanker (Bhatia dkk., 2013). Selain itu tanin merupakan antioksidan penangkal radikal bebas pemicu kanker dalam tubuh (Shinta & Kusuma, 2015).

2.7 Toksisitas

2.7.1 Akut

Tikus-tikus *Sprague Dawley* yang diberi ekstrak metanol daun *Clinacanthus nutans* selama 14 hari secara oral dengan dosis 300 mg/kg , 600 mg/kg dan 900 mg/kg tidak menyebabkan efek toksisitas pada organ ginjal dan hati. Parameter yang digunakan yaitu serum hati seperti aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), dan bilirubin total serta serum ginjal seperti ureum dan kreatinin (P'ng dkk., 2013). Ekstrak air daun *Clinacanthus nutans* dosis tunggal 5000 mg/kg diberikan ke tikus *Sprague Dawley* dan diamati selama 14 hari yang bertujuan untuk memberikan profil toksisitas akut in vivo ekstrak aqueous daun *Clinacanthus nutans*. Pada penelitian ini tidak

menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas yang abnormal. Metode evaluasi berdasarkan pengamatan fisik, analisis hematologi, biokimia, histopatologi, evaluasi metabolomic serum dan urin 1H-NMR (Khoo dkk., 2018).

Penelitian toksisitas akut dengan menggunakan ekstrak metanol daun *Clinacanthus nutans* dosis tunggal 5000 mg/kg diberikan pada tikus jantan dan betina secara oral. Penelitian dipantau selama 14 hari berturut-turut. Tidak adanya perubahan yang signifikan pada penambahan berat badan. Nilai toksisitas oral akut lethal dose 50% (LD50) yang dihitung dari ekstrak metanol daun *Clinacanthus nutans* untuk tikus jantan dan betina diperkirakan lebih besar dari 5000 mg/kg. Oleh karena itu ekstrak metanol daun *Clinacanthus nutans* aman untuk pemberian oral (Zakaria dkk., 2016).

2.7.2 Sub Kronis

Tikus *Sprague Dawley* jantan umur 6 minggu sebanyak 40 ekor diberikan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dengan dosis 75 mg/kg, 125 mg/kg, dan 250 mg/kg selama 90 hari melalui gavage oral. Tidak ada tanda kematian akibat toksisitas sub kronis selama pengamatan. Pada parameter biokimia serum hati dan ginjal, kadar LDH dan kreatinin kinase turun pada kelompok dosis 250 mg/kg. Namun pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* selama 90 hari menginduksi tingkat toksisitas ringan pada hati dan ginjal. Dosis tinggi 250 mg/kg selama 90 hari menimbulkan banyak lesi histopatologi (Nadia Asyura dkk., 2016).

Pada penelitian toksisitas subkronis, tikus jantan dan betina diberikan ekstrak metanol daun *Clinacanthus nutans* dengan dosis 50, 500 dan 2500 mg/kg selama 28 hari. Pada dosis 500 dan 2500 mg/kg terjadi peningkatan kreatinin. Ekstrak metanol daun *Clinacanthus nutans* tidak menunjukkan adanya perubahan signifikan dalam tanda-tanda klinis toksisitas dan kematian

terkait pengobatan, serta tidak menyebabkan tanda-tanda toksisitas biokimia, hematologis, anatomis dan histopatologis (Zakaria dkk., 2016).

2.8 Hewan Coba Tikus Model Diabetes Melitus

2.8.1 *Rattus norvegicus* strain wistar

Hewan coba yang sering dan banyak dimanfaatkan sebagai bahan penelitian merupakan tikus putih (*Rattus norvegicus*), dipilih sebagai hewan coba karena mudah didapatkan, mudah dipelihara, relative sehat (Malole & Pramono, 1989), jinak dan yang paling utama fenotipnya mirip dengan penyakit pada manusia. Berdasarkan bentuk fisik *Rattus norvegicus* berukuran relatif besar memudahkan pembedahan atau transplantasi organ. *Rattus norvegicus* menjadi standar penelitian tingkah laku, neurologi, nutrisi, dan metabolik (Suckow dkk., 2017). Terkait penelitian metabolik *Rattus norvegicus* dapat dijadikan model hewan diabetes non-genetik. Model hewan diabetes non-genetik adalah hewan coba dalam keadaan sehat tetapi mendapatkan perlakuan tertentu sehingga menyebabkan hewan coba mengalami diabetes melitus (Husna dkk., 2016).

Rattus norvegicus menjadi hewan coba paling banyak digunakan dalam penelitian diabetes melitus karena memiliki persamaan patogenesis dengan diabetes melitus pada manusia (Ghasemi dkk., 2014). Penelitian menggunakan *Rattus norvegicus* galur wistar yang berjenis kelamin jantan. Pada *Rattus norvegicus* galur Wistar berjenis kelamin betina memiliki hormon estrogen lebih banyak dibandingkan *Rattus norvegicus* jantan. Hormon estrogen diproduksi oleh kelenjar endokrin sistem reproduksi wanita

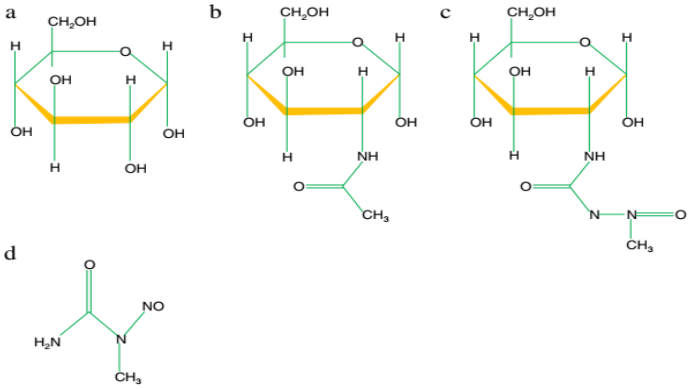
(Rahmawati, 2014). Estrogen berfungsi melindungi sistem kardiovaskular, reproduksi, tulang, hati, dan otak. Estrogen memiliki aktivitas antioksidan. Pengikatan estrogen pada reseptor estrogen menginduksi *superoxide dismutase* (SOD) mitokondria dan sitosol serta *glutathione peroxide* (GPx) (Cervellati & Bergamini, 2016).

2.8.2 *Streptozotocin* (STZ)

Streptozotocin (STZ) adalah senyawa yang berada di dalam bakteri *Streptomyces achromogenes*. *Streptozotocin* berguna untuk memicu diabetes melitus (DM) pada hewan coba karena STZ tersusun dari gugus nitrosourea dan memiliki dua ujung. Dua ujung STZ mengikat gugus metil dan ujung lainnya mengikat glukosa (Ogbonnaya Eleazu dkk., 2013).

Gambar 2.7 Struktur (a) Glukosa (b) N-asetil glukosamin (c) *Streptozotocin* (d) Metil Nitrosourea (Ogbonnaya Eleazu dkk., 2013)

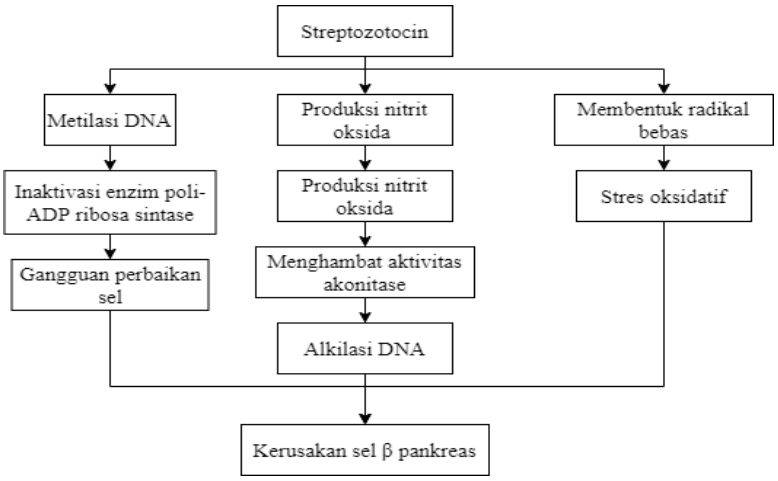
Streptozotocin memberikan efek toksik ke dalam sel β pankreas melalui gugus nitrosourea dengan menghasilkan radikal bebas seperti nitrat oksida, superoksida, dan hidrogen peroksida yang menyebabkan metilasi DNA (Singh dkk., 2021). Efek toksik STZ dapat masuk ke dalam sel β pankreas karena sel β aktif mengambil glukosa sehingga spesifik terhadap



STZ yang memiliki gugus glukosa. Streptozotocin masuk ke dalam sel β pankreas melalui transpoter glukosa (GLUT2) (Xu dkk., 2021).

Streptozotocin merupakan nitrosourea yang kurang lipofilik sehingga memerlukan transporter glukosa (GLUT2) untuk melewati membrane sel, dan STZ hanya mampu memberi efek toksik pada organ yang mengeksperiskan transpoter GLUT2 (Grieb, 2016). Transport glukosa (GLUT2) dapat ditemukan di hati, ginjal, dan jantung pada tingkat yang lebih rendah, sehingga dosis rendah STZ tidak dapat merusak fungsi hati, ginjal, dan jantung (Freeman, dkk., 2016). Pengaruh efek toksik STZ yang masuk dalam sel β pankreas menyebabkan aktivasi metilasi DNA, produksi nitrit, dan pembentukan radikal bebas.

Berikut mekanisme STZ menginduksi DM pada hewan coba



Gambar 2.8 Mekanisme STZ menginduksi diabetes melitus (Ogbonnaya Eleazu dkk., 2013).

Induksi STZ pada hewan coba menimbulkan tiga mekanisme berbeda untuk menyebabkan kerusakan atau kematian sel, yaitu:

a. Mekanisme yang pertama merupakan metilasi DNA dengan membentuk ion carbonium (CH_3^+) untuk menginaktifkan enzim poli ADP-ribosa sintetase. Enzim poli ADP-ribosa sintetase berfungsi memperbaiki sel.

b. Induksi STZ mengaktifkan produksi nitrit oksida. *Streptozotocin* memasukkan nitrit oksida ke dalam sel pankreas kemudian menghambat

aktivitas aconitase. Aconitase berfungsi menyebabkan alkilasi dan kerusakan DNA.

c. *Streptozotocin* berfungsi meningkatkan radikal bebas dengan membentuk hidrogen peroksida.

Dari ketiga mekanisme diatas STZ mampu menyebabkan kerusakan sel β pankreas sehingga berkurangnya sekresi insulin. Defisiensi insulin berpengaruh meningkatkan gula darah oleh karena itu terjadi hiperglikemia (Ogbonnaya Eleazu dkk., 2013). Penelitian yang dilakukan Tabatabaie & Yazdanparast (2017) menginduksi DM menggunakan STZ dosis tunggal 45 mg/kgBB yang dilarutkan dalam buffer natrium sitrat 0,1M dan Ph 4,5 kemudian diinjeksi intraperitoneal setelah tikus dipuasakan semalam dapat menginduksi DM pada 18 tikus. Injeksi intraperitoneal adalah injeksi obat ke dalam rongga peritoneum. Rongga peritoneum mempunyai permukaan absorpsi yang luas sehingga obat dapat masuk ke sirkulasi sistemik secara cepat (Andrews, 2014). Kriteria diagnosis glukosa darah puasa berdasarkan penelitian yang dilakukan Umami dkk. (2015) dimana kriteria diagnosis diabetes melitus pada tikus dengan induksi STZ menyebabkan kerusakan sel β pankreas sehingga terjadi penurunan kadar insulin tubuh yang meningkatkan kadar glukosa darah sebesar > 200 mg/dL.

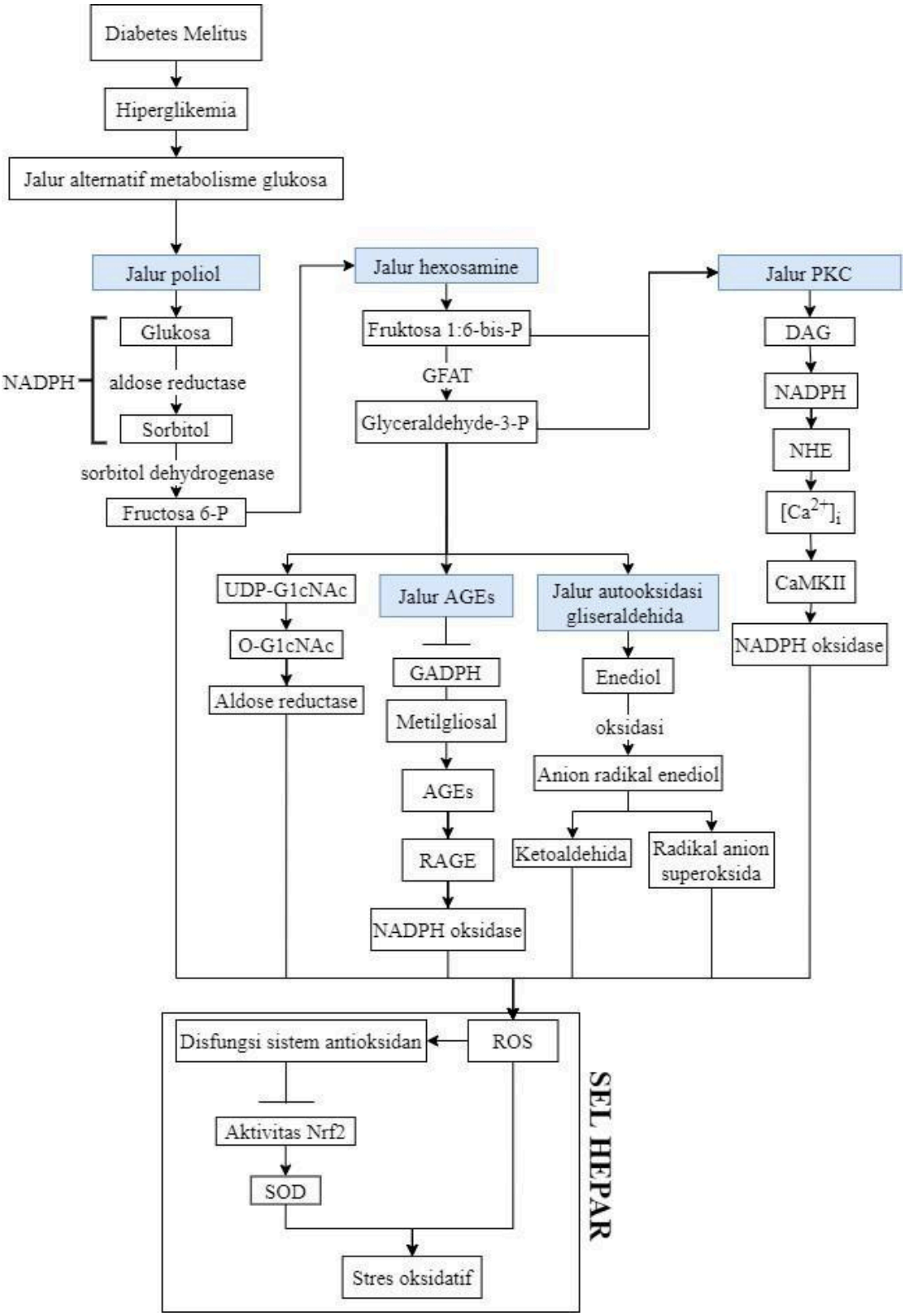
2.9 Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah alat untuk mengukur banyaknya suatu zat mampu menyerap cahaya dengan mengukur intensitas cahaya, Ketika zat dilewati seberkas cahaya. Prinsip dasar spektrofotometri yaitu senyawa menyerap atau mentransmisikan cahaya pada rentang frekuensi tertentu (panjang gelombang). Berbagai macam gelombang yang muncul pada spektrofotometri disebabkan perbedaan kemampuan senyawa dalam menyerap panjang gelombang (Renjini & Dileep, 2017).

Terdapat dua jenis spektrofotometri, yaitu spektrofotometri UV Vis (Ultraviolet tampak) dan Spektrofotometri massa. Spektrofotometri UV Vis berguna untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Selain itu dapat digunakan untuk penentuan sampel seperti larutan, gas atau uap. Sampel yang digunakan harus berupa suatu larutan yang jernih. Untuk mendapatkan sampel yang jernih dapat dilarutkan menggunakan pelarut seperti n-heksana, metanol, etanol dan air karena pelarut-pelarut ini transparan pada area UV. Prinsip dasar spektrofotometri massa yaitu menyebabkan senyawa yang diamati mengalami

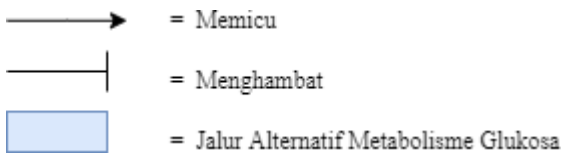
perubahan fisika dan perubahan kimia. Spektrofotometri massa memberikan energi elektron dalam jumlah yang sangat tinggi saat sampel organik berupa gas. Tingginya energi elektron menyebabkan elektron dari molekul sampel organik lepas, menghasilkan ion organik (Suhartati Tati, 2017).

2.10 Kerangka Teori



Gambar 2.9 Bagan Kerangka Teori

Keterangan:



Penjelasan:

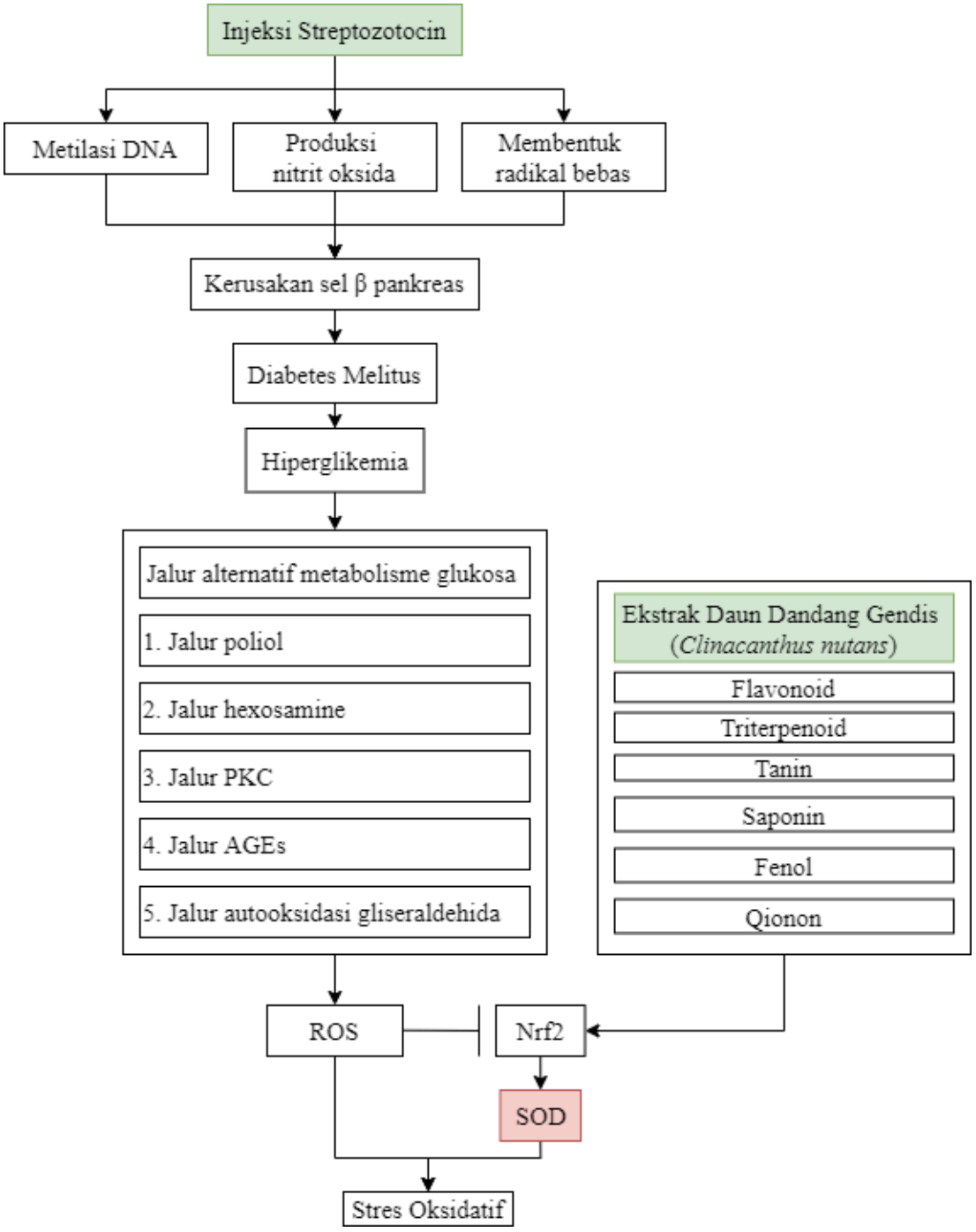
Diabetes melitus yang ditandai dengan peningkatan glukosa darah (hiperglikemia). Kondisi hiperglikemia memicu aktivasi jalur alternatif metabolisme glukosa yaitu jalur poliol, jalur hexosamine, jalur PKC, jalur AGEs, dan jalur autooksidasi gliseraldehida. Pertama jalur poliol, pada jalur ini glukosa diubah oleh enzim aldose reductase dan bantuan NADPH menjadi sorbitol, sorbitol oleh bantuan enzim sorbitol dehydrogenase diubah menjadi fruktosa 6-P. Fungsi NADPH yaitu meregenerasi GSSG (bentuk glutation teroksidasi) menjadi glutation tereduksi (GSH). Ketika NADPH banyak digunakan untuk jalur poliol menyebabkan kadar GSH menurun. Saat tingkat GSH turun, kapasitas antioksidan juga menurun, menghasilkan peningkatan ROS. Kedua jalur hexosamine, jalur ini dari fruktosa 6-P diubah menjadi fruktosa 1:6- bis-fosfat oleh enzim glutaminefructose 6-P amidotransferase (GFAT). GFAT membuat glukosamin 6-P dari fruktosa 1:6-bis-P selanjutnya diubah menjadi UDP-N- asetilglukosamin (UDP-GlcNAc) yang merupakan substrat spesifik O *linked* N asetilglukosamin (O-GlcNAc) yang mengkatalisis protein. Pada kondisi hiperglikemia terjadi peningkatan aktivitas GFAT menghasilkan peningkatan O-GlcNAc, yang mengaktifkan *aldose reductase* untuk memperkuat produksi ROS. Ketiga jalur protein kinase C (PKC), jalur ini terurai dari fruktosa 1:6-bis-P dan gliseraldehida 3-fosfat. Akumulasi gliseraldehida 3-fosfat dapat meningkatkan sintesis *diacyglycerol* (DAG) yang merupakan aktivator

protein kinase C (PKC). Kondisi hiperglikemia mengaktifkan PKC dengan menginduksi DAG. Protein kinase C mengaktifkan NADPH dengan memfosforilasi komponen sitosolnya seperti p47phox. Aktivasi NADPH mengaktifkan Na^{+}-H^{+} exchanger (NHE). Aktivasi NHE berperan meningkatkan Ca^{2+} intracellular $[Ca^{2+}]_i$, yang memfosforilasi calmodulin dependent protein kinase (CaMKII) dan mengaktifkan NADPH oksidase untuk menghasilkan lebih banyak ROS. Keempat AGEs, jalur ini bercabang dari glyceraldehyde-3-P. Pada keadaan hiperglikemia terjadi penghambatan GADPH menyebabkan akumulasi gliseraldehida-3-fosfat dan membentuk methylglyoxal (MGO), kemudian MGO menghasilkan AGEs. *Advanced glycation endproducts* akan berikatan dengan reseptornya (RAGE) dan mengaktifkan NADPH oksidase yang memfasilitasi produksi ROS. Kelima jalur autooksidasi gliseraldehida, jalur ini juga bercabang dari gliseraldehida 3-fosfat, dapat mengalami autooksidasi membentuk glukosa enediol yang dapat dioksidasi menjadi anion radikal enediol. Anion radikal enediol dapat diubah menjadi ketoaldehida dan radikal anion superoksida yang menyebabkan produksi ROS. Peningkatan produksi ROS oleh jalur-jalur alternatif metabolisme glukosa berdampak pada organ-organ vital tubuh. Salah satu organ utama yang terdampak peningkatan produksi ROS yaitu hepar. Hepar merupakan organ detoksifikasi. Peningkatan ROS pada sel hepar menyebabkan disfungsi sistem antioksidan. Disfungsi sistem antioksidan akan menghambat aktivitas Nrf2. *Nuclear factor erythroid-2-related factor 2* (Nrf2) berfungsi untuk berikatan dengan ARE sehingga memproduksi enzim antioksidan endogen seperti SOD. Superoksida dismutase turun akibat terhambatnya Nrf2 . Kombinasi peningkatan produksi ROS dan penurunan kadar SOD menyebabkan stres oksidatif.

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep

Keterangan:

Penjelasan:

Pemberian streptozotocin yang memiliki efek toksik menyebabkan metilasi DNA, produksi nitrit oksida dan membentuk radikal bebas sehingga mengakibatkan disfungsi sel β pankreas. Kerusakan sel β pankreas mengakibatkan diabetes melitus yang ditandai dengan hiperglikemia. Pada keadaan hiperglikemia tubuh mengalami lima mekanisme metabolisme glukosa yaitu aktivasi jalur poliol, hexosamine, PKC, AGEs dan autooksidasi gliseraldehid. Lima mekanisme ini menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Peningkatan ROS berefek menghambat Nrf2. Terhambatnya Nrf2 berakibat turunnya produksi SOD. Kombinasi peningkatan produksi ROS dan penurunan kadar SOD menyebabkan stres oksidatif.

Ekstrak daun *Clinacanthus nutans* memiliki efek antioksidan. Efek antioksidan berasal dari senyawa metabolit yang terkandung di dalam *Clinacanthus nutans* seperti flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin, fenol, dan quionon. Senyawa-senyawa metabolit *Clinacanthus nutans* mampu mengaktifkan *nuclear factor erythroid-2-related factor 2* (Nrf2). Aktivasi Nrf2 menyebabkan terjadi peningkatan kadar SOD. Peningkatan SOD diharapkan mampu menetralisir efek toksik stres oksidatif.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian sebagai berikut:

H0: Pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) tidak berpengaruh terhadap peningkatan kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus (DM) yang diberi injeksi *streptozotocin* (STZ)

H1: Pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) berpengaruh terhadap peningkatan kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus (DM) yang diberi injeksi *streptozotocin* (STZ)

BAB IV

METODE

PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan subjek penelitian hewan coba tikus menggunakan metode *randomized post test only control group* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) terhadap kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada hepar tikus model diabetes melitus (DM).

Variabel dalam penelitian ini antara lain:

1. Variabel Bebas

   Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) yang diberikan secara per oral dengan dosis bervariasi.

2. Variabel Terikat

   Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SOD organ hepar tikus model DM.

3. Variabel Perancu

   Variabel perancu dalam penelitian ini adalah beberapa hal yang dapat merubah hasil penelitian seperti kondisi stres, pakan, air minum, dan kebersihan kandang yang harus dikontrol agar tidak mempengaruhi hasil penelitian.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Mei - Oktober 2022.

Penelitian dilakukan pada beberapa tempat yaitu:

1. Laboratorium Fitokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang untuk pembuatan ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*).
2. Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang untuk pemeliharaan dan pembuatan hewan coba tikus model DM.
3. Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang untuk pengujian Spektrofotometri SOD hepar tikus model DM.

4.3 Populasi Penelitian

Penelitian ini menggunakan populasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar, berjenis kelamin jantan dengan berat badan ± 200 gram, dan usia sekitar tiga bulan yang berasal dari peternakan hewan coba di Kota Malang.

4.4 Sampel Penelitian

4.4.1 Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok hewan coba. Perhitungan jumlah sampel pada penelitian ini berdasarkan rumus Lemeshow (1997) sebagai berikut:

$$N = \frac{2\sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan:

N = besar sampel

σ = selisih standar deviasi kelompok terpapar dan tidak terpapar

$Z_{1-\alpha/2}$ = nilai distribusi normal standar dengan tingkat kemaknaan α

(untuk α = 0,05 adalah 1,96)

$Z_{1-\beta}$ = nilai distribusi normal standar dengan kuasa (β) yang

diinginkan (untuk β = 0,02 adalah 0,84)

μ_1 = mean kelompok terpapar

μ_2 = mean kelompok tidak terpapar

Nilai mean dan standar deviasi berdasar dari penelitian Imam dkk. (2019).

Banyak sampel yang dibutuhkan pada penelitian ini dihitung sebagai

Berikut :

$$N = \frac{2\,(32-17)^2\,(1{,}96+0{,}84)^2}{(150-125)^2}$$

N = 5,6 dibulatkan menjadi 6

Berdasarkan perhitungan, maka didapatkan besar sampel yang dibutuhkan adalah 6 sampel pada masing-masing kelompok perlakuan. Total sampel pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus. Pembagian kelompok tikus menjadi 5 kelompok menggunakan sistem acak, yaitu terlihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Kelompok Perlakuan

No	Nama Kelompok	Keterangan
1.	Kelompok kontrol normal (K1)	Kelompok tikus yang tidak diinjeksi STZ dan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans*
2.	Kelompok kontrol diabetes mellitus (K2)	Kelompok tikus yang diinjeksi STZ, namun tidak diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans*
3.	Kelompok perlakuan 1 (P1)	Kelompok tikus yang diinjeksi STZ dan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 100 mg/kgBB
4.	Kelompok perlakuan 2 (P2)	Kelompok tikus yang diinjeksi STZ dan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 200 mg/kgBB
5.	Kelompok perlakuan 3 (P3)	Kelompok tikus yang diinjeksi STZ dan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 400 mg/kgBB

4.4.2 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria Inklusi

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar
2. Jenis kelamin jantan
3. Umur ± 3 bulan
4. Berat badan ± 200 gram
5. Tikus tidak cacat
6. Tikus sehat dan bergerak aktif
7. Tikus terdiagnosis diabetes melitus dengan GDP >200 mg/dl pada hari ke-7 setelah induksi STZ.

Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang tidak terdiagnosa diabetes melitus.
2. Tikus yang mati selama diberi perlakuan.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

Tabel 4.2 Alat dan Bahan Penelitian

No	Kegiatan Penelitian	Alat	Bahan
1.	Persiapan hewan coba	Kandang tikus dengan tutup berupa kawat dan menggunakan batu sebagai penahan. Kandang dilengkapi botol minum dan wadah makanan.	Tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*, pakan tikus standar, sekam, dan air.
2.	Pembuatan ekstrak daun *Clinacanthus nutans* a. Penggilingan daun dandang gendis b. Pembuata n ekstrak	a. Mesin penggiling b. Gelas beaker, erlenmeyer, batang pengaduk, corong, kaca arloji, cawan porselen, sendok tanduk, *rotatory vacuum evaporator*, neraca analitik, *ultrasonic cleaner*, dan oven.	*a.* Daun *Clinacanthus nutans* b. Simplisia daun *Clinacanthus nutans*, etanol 70% air, kertas saring, aluminium foil.
3.	Pembuatan larutan ekstrak daun *Clinacanthus nutans* untuk sonde a. Pembuatan stok larutan b. Sonde untuk ekstrak daun *Clinacanthu s nutans*	*a. Magnetic stirrer,* botol pereaksi b. Sonde lambung	a. Na CMC 0,5%, aquades *b.* Larutan ekstrak daun *Clinacanthus nutans*
4.	Pembuatan hewan coba model diabetes melitus menggunakan injeksi *Streptozotocin* secara intraperitoneal	Spuit	STZ dan buffer nitrat
5.	Pengambilan hepar	Jarum pentul, alat bedah minor, toples organ, dan neraca analitik.	Larutan NaCl dan formalin 10%
6.	Uji SOD	Tabung reaksi, gelas beker, *eppendorf tube*, botol pereaksi gelap, neraca, spektrofotometer.	Reagen SOD total dan jaringan hepar

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.3 Definisi Operasional Penelitian

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Ekstrak daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*)	Daun dandang gendis dideterminasi di Materia Medica Batu kemudian dikeringkan dan dihaluskan menjadi simplisia. Ekstraksi simplisia menggunakan metode UAE menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak daun dandang gendis dibagi menjadi tiga dosis yaitu 100, 200, dan 400 mg/kgBB. Penyondean tikus dilakukan selama 4 minggu.	Timbangan analitik	mg/kgBB	Rasio
2.	Tikus model diabetes melitus	Tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar berkelamin jantan dengan berat badan ± 200 gram, berusia ± 3 bulan, kadar GDP >200 mg/dL setelah 7 hari injeksi STZ.	Glukometer	mg/dL	Rasio
3.	*Superoxide dismutase* (SOD)	*Superoxide dismutase* merupakan antioksidan endogen yang akan diukur kadarnya pada organ hepar dengan kit uji aktivitas total SOD assay kit merk *Elabscience* menggunakan Spektrofotometer.	Spektrofotom eter UV-Vis	U/mgprot	Rasio

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun *Clinacanthus nutans*

Daun *Clinacanthus nutans* yang telah dideterminasi kemudian dicuci dan dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3 hari. Daun *Clinacanthus nutans* yang kering selanjutnya dihaluskan kecuali batang daun. Setelah dihaluskan, daun diayak menjadi serbuk halus (simplisia).

Simplisia daun *Clinacanthus nutans* diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Baharuddin dkk. (2018) metode UAE dapat mengekstraksi secara maksimal senyawa metabolit C. nutans seperti fenol dan flavonoid. Metode UAE memerlukan pelarut sebagai media perambatan gelombang ultrasonik sehingga dengan cepat memecah dinding sel senyawa metabolit daun *Clinacanthus nutans* (Sari dkk., 2012).

Pelarut etanol digunakan saat ekstraksi karena derivat alkohol yang mampu mengekstraksi senyawa metabolit bahan alam secara maksimal (Wijaya dkk., 2019). Pelarut methanol tidak dipilih sebagai pelarut karena bersifat toksik dan telah dilarang penggunaanya oleh BPOM (PERKA BPOM RI, 2016). Simplisia daun *Clinacanthus nutans* sebanyak 400 gram dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 4 liter. Perbandingan simplisia dengan pelarut = 1 : 10. Simplisia dan pelarut dimasukkan ke dalam alat UAE dengan memakai frekuensi 42 kHz selama 10-30 menit pada suhu kamar. Hasil ekstraksi selanjutnya disaring dengan kertas saring lalu dimasukkan ke dalam *rotatory evaporator*. Ekstrak *Clinacanthus nutans* kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C sampai ekstrak berbentuk kental seperti pasta. Proses

pemanasan dilakukan untuk memperoleh kelarutan zat aktif dan mengeluarkan senyawa metabolit lebih banyak dibandingkan tanpa pemanasan (Chairunnisa dkk., 2019). Pemanasan dengan suhu tinggi berguna untuk menghilangkan pelarut etanol karena etanol memiliki titik didih 70°C sehingga mengekstraksi seluruh komponen dalam bahan (Snyder & Romanczyk, 2004).

4.7.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun *Clinacanthus nutans* untuk Sonde

a. Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%

Natrium-*carboxymethyl cellulose* (Na CMC) dijadikan sediaan larutan dengan konsentrasi 0,5% menggunakan cara dibawah ini:

- Aquades 1000 mL dipanaskan menggunakan gelas beker kemudian ditambahkan 500 mg serbuk Na CMC secara perlahan sambil diaduk sampai berwarna bening dan mengental, sediaan berbentuk seperti gel.
- Gel diaduk hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer* dengan suhu 70°C.
- Proses pemanasan boleh dihentikan ketika gel homogen, kemudian gelas beker direndam di wadah berisi air dingin.
- Sediaan larutan Na CMC bersuhu ruang disonde langsung ke hewan coba atau diletakkan di dalam kulkas

b. Persiapan Sediaan Larutan Ekstrak

Dosis ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB dengan perhitungan larutan ekstrak, yaitu:

a. Penentuan Konsentrasi Sediaan

Dosis Perlakuan (mg/kgBB) : Persen Pemberian (mL/100gBB)

- Dosis P1 = 100 mg/kgBB : 1 mL/100 gBB
  = 10 mg/mL
  = 1% (g/mL)
- Dosis P2 = 200 mg/kgBB : 1 mL/100 gBB
  = 20 mg/mL
  = 2% (g/mL)
- Dosis P3 = 400 mg/kgBB : 1 mL/100 gBB
  = 40 mg/mL
  = 4% (g/mL)

b. Penentuan Berat Ekstrak yang Ditimbang

Berat Ekstrak = Dosis Perlakuan (mg/kgBB) x Total Berat Hewan

Total Berat Hewan = jumlah hewan x rata-rata berat

- Dosis P1 = 100 mg/kgBB x (200gBB x 8)
  = 160 mg/hari untuk 8 ekor tikus
- Dosis P2 = 200 mg/kgBB x (200gBB x 8)
  = 320 mg/hari untuk 8 ekor tikus
- Dosis P3 = 400 mg/kgBB x (200gBB x 8)
  = 640 mg/hari untuk 8 ekor tikus

c. Penentuan Volume Sediaan Ekstrak yang Dibuat

Berat Ekstrak yang Diperlukan : Konsentrasi Sediaan

- Dosis P1 = 160 mg : 1% (1 g/100 ml)

  = 16 ml/hari, untuk 8 ekor tikus

- Dosis P2 = 320 mg : 2% (2 g/100 ml)

  = 16 ml/hari, untuk 8 ekor tikus

- Dosis P3 = 640 mg : 4% (4 g/100 ml)

  = 16 ml/hari, untuk 8 ekor tikus

d. Penentuan Sedian Larutan Ekstrak Selama Seminggu

(Berat Ekstrak x 7 hari) dilarutkan dalam (Volume Sediaan Ekstrak x 7 hari)

- Dosis P1 = (160 mg x 7 hari) dilarutkan dalam (16 ml x 7 hari)

  = 1120 mg ekstrak dilarutkan dalam 112 ml Na CMC

- Dosis P2 = (320 mg x 7 hari) dilarutkan dalam (16 ml x 7 hari)

  = 2240 mg ekstrak dilarutkan dalam 112 ml Na CMC

- Dosis P3 = (640 mg x 7 hari) dilarutkan dalam (16 ml x 7 hari)

  = 4480 mg ekstrak dilarutkan dalam 112 ml Na CMC

Ekstrak disiapkan dalam larutan Na CMC 0,5% dan disonde dengan volume berkisar 2 mL untuk setiap tikus agar tidak melebihi volume maksimal lambung tikus yaitu 3-5 mL. Larutan ekstrak diberikan satu kali per hari.

4.7.3 Perlakuan Hewan Coba

a. Perawatan

Jumlah hewan coba (*Rattus norvegicus* strain wistar) sebanyak 30 ekor dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok berisi 6 ekor tikus. Tiap kelompok tikus diletakkan di kandang yang berbeda dan diberikan label. Tikus diletakkan pada suhu ruangan 25°C dan diadaptasikan pada kondisi setempat (aklimatisasi) selama 7 hari dengan diberikan pakan standar 40g/tikus/hari dan air dengan 12 jam siklus gelap-terang. Berat badan semua tikus ditimbang setiap minggu. Kandang tikus dibersihkan setiap hari dengan mengganti sekam.

b. Induksi Diabetes Melitus

Tahapan-tahapan penginduksian diabetes melitus pada hewan coba, sebagai berikut:

- Tikus dipuasakan selama 8-10 jam setelah 7 hari aklimatisasi.
- Streptozotocin (STZ) dosis 45 mg/kgBB (0,045 mg/grBB) dilarutkan dengan buffer sitrat 0,1 M.
- Pembuatan bufer sitrat dilakukan dengan mengkombinasikan 2 larutan. Larutan A adalah 0,1 M asam sitrat (2,1 g dalam 100 ml), lalu larutan B adalah 0,1 M natrium sitrat (2,9 g dalam 100 ml). Larutan bufer sitrat dibuat dari kombinasi larutan A (26,75 ml) + larutan B (23,25 ml), kemudian ditambah akuades hingga volume 100 ml, dan didapatkan pH 4,5.
- STZ diinjeksi secara intraperitoneal yang sebelumnya di desinfeksi menggunakan alkohol swab
- Tikus dikembalikan ke kandang sesuai perlakuan
- Tikus diberikan air sukrosa 10% selama 2 hari setelah injeksi

Prosedur pengukuran glukosa tikus setelah penginduksian diabetes melitus sebagai berikut:

- Tikus dipuasakan selama 8-10 jam.
- Tikus didesinfeksi pada area ekor menggunakan alkohol swab
- Ekor tikus ditusuk dengan jarum, kemudian darah ekor tikus diukur dengan alat glukometer (terdiagnosa diabetes melitus ketika kadar glukosa darah tikus >200 mg/dL), selanjutnya ekor tikus dibersihkan dengan alkohol swab.

c. Perlakuan

Perlakuan diberikan pada kelompok tikus P1, P2, dan P3. Tikus diberikan ekstrak *Clinacanthus nutans* dengan dosis berbeda selama 4 minggu setiap hari dengan cara disonde.

- Kelompok P1 diberikan dosis 100 mg/kgBB
- Kelompok P2 diberikan dosis 200 mg/kgBB
- Kelompok P3 diberikan dosis 400 mg/kgBB

d. Pengambilan dan Preparasi Sampel

Tikus di anestesi menggunakan ketamin dan xylazine dengan perbandingan 1:1 dosis 0,2 ml/tikus (ketamin 0,1 ml dan xylazine 0,1 ml) injeksi intramuscular muskulus gluteus

- Tikus diposisikan terlentang di atas papan bedah dan difiksasi dengan jarum pentul
- Tikus dibedah daerah dada (*cavum thorax*) kemudian organ hepar diambil secara perlahan dan hati-hati
- Regio colic impression hepar digunting dan ditimbang 0,4 gram lalu dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% untuk dicuci

- Jaringan hepar dan phosphate buffered saline (PBS) dimasukkan ke dalam *microtube* dengan perbandingan berat (gr) : volume (mL) adalah 1 : 9 (jaringan hepar 0,4 gram dan PBS 3,6 ml) lalu dihaluskan menggunakan mortar dan alu, selanjutnya dihomogenkan secara mekanik dengan vortex
- Jaringan hepar setelah dihomogenkan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 g selama 10 menit menghasilkan supernatan yang akan diperiksa dengan spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur kadar SOD (Elabscience, 2018).

4.7.4 Pengukuran SOD

Prosedur pengukuran kadar SOD sebagai berikut:

1. Sediakan tiga tabung sebagai berikut :
    - Tabung kontrol blanko : dimasukkan 5 µL PBS (0,01 M, Ph 7,9)
    - Tabung kontrol : dimasukkan 5 µL PBS (0,01 M, Ph 7,9)
    - Tabung sampel : dimasukkan 5 µL sampel
2. Tambahkan 90 µL larutan reagen kedalam setiap tabung pada langkah 1
3. Tambahkan larutan kerja enzim kedalam setiap tabung sebagai berikut.
    - Tabung kontrol blanko : tambahkan 30 µL larutan kerja enzim
    - Tabung kontrol : tambahkan 30 µL larutan kerja enzim
    - Tabung sampel : tambahkan 30 µL larutan kerja enzim
4. Semua tabung dikocok selama 10 detik dengan *microplate reader* dan tutup *plate* dengan *sealer*, inkubasi selama 50 menit pada suhu 37℃.
5. Tambahkan 180 µL agen *chromogenic* ke dalam setiap tabung pada langkah empat

6. Semua tabung dikocok selama 10 detik dengan *microplate reader* dan diamkan selama 10 menit pada suhu kamar. kemudian mengukur nilai OD setiap tabung pada gelombang 550 nm dengan *microplate reader.*

Untuk sampel jaringan hewan, setelah mendapatkan nilai OD pada spektrofotometer, maka dimasukkan rumus untuk mendapatkan nilai TSOD activity, sebagai berikut:

T-SOD *Activity* (U/mgprot) = i ÷ 50% × (V1 ; V2) × f ÷ Cpr

Keterangan:

i : inhibition ratio, $i = \frac{\text{OD } control - \text{OD } sample}{\text{OD } control} \times 100\%$

V1 : volume total larutan reaksi (mL)

V2 : volume sampel yang ditambahkan (mL)

F : faktor pengenceran sampel sebelum pengujian

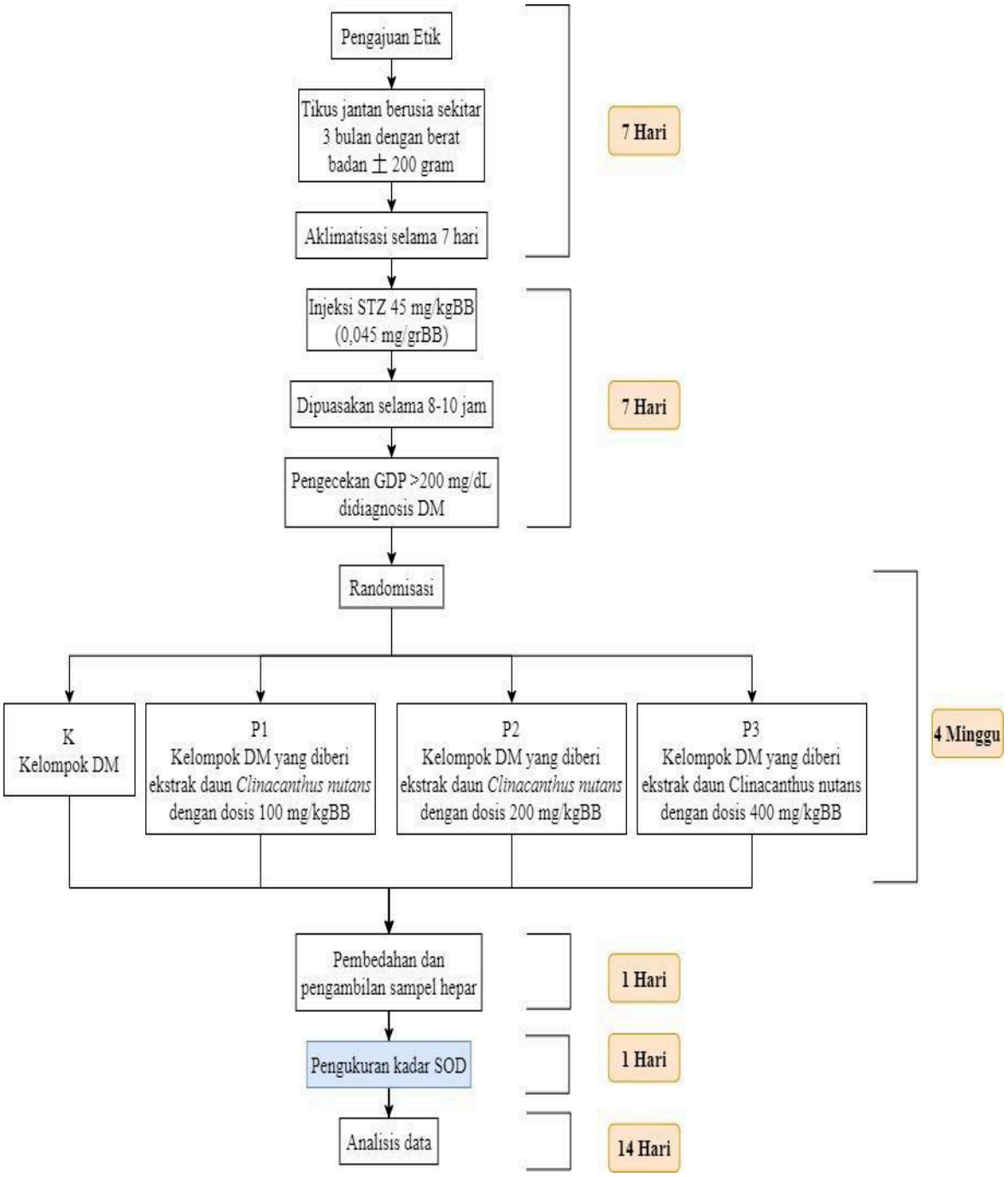
Cpr : konsentrasi protein dalam sampel (mgprot/mL)

Pengukuran kadar protein menggunakan Spektrofotometer *Nanodrop One* sebagai berikut :

1. Pilih tab "**Protein**" pada layer beranda lalu klik "**Protein & Label**"
2. Pilih jenis sampel dan jenis pewarna yang digunakan
3. Larutan blanko diambil menggunakan pipet 1-2 µL dimasukkan ke *pedestal* bawah dan *arm*, atau masukkan kuvet blanko ke kuvet wadah
4. Pilih "***Blank***" dan tunggu pengukuran selesai
5. Hidupkan *arm* dan bersihkan kedua *pedestal* dengan lap laboratorium baru, atau lepaskan kuvet blanko

6. Larutan sampel diambil 2 μL menggunakan pipet ke *pedestal* dan *arm* bawah, atau masukkan dari kuvet sampel ke wadah kuvet
7. Sampel mulai diukur
    - *Pedestal* : jika "***Auto-measure***" menyala, *arm* bawah; jika "***Auto-measure***" mati, *arm* bawah dan pilih "***Measure***"
    - Kuvet : pilih "***Measure***"
8. Pengukuran sampel selesai, pilih "***End experiment***"
9. *Arm* diangkat dan bersihkan kedua *pedestal* dengan lap baru, atau lepaskan kuvet sampel.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Data penelitian diambil dari hasil perlakuan eksperimental terhadap tikus putih strain wistar. Data dianalisis menggunakan Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows versi 26 dan data yang sudah didapatkan dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas dengan menggunakan metode Saphiro Wilk bertujuan untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak. Uji normalitas dikatakan normal apabila didapatkan nilai $p>0,05$. Uji selanjutnya yaitu uji homogenitas dengan metode Levene untuk mengetahui data yang didapatkan homogen atau tidak. Data dikatakan homogen apabila didapatkan nilai $p>0,05$.

Jika didapatkan data berdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji parametrik yaitu ANOVA yang bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan atau tidak pada kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan maka nilai $p<0,05$. Jika didapatkan hasil yang signifikan dari uji ANOVA, maka diperlukan uji post hoc menggunakan metode Bonferroni untuk mengetahui variabel manakah yang menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Namun, apabila data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, selanjutnya dilakukan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* yang bertujuan untuk menentukan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna maka hasil menunjukkan $p<0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann- Whitney U.*

BAB V

HASIL PENELITIAN

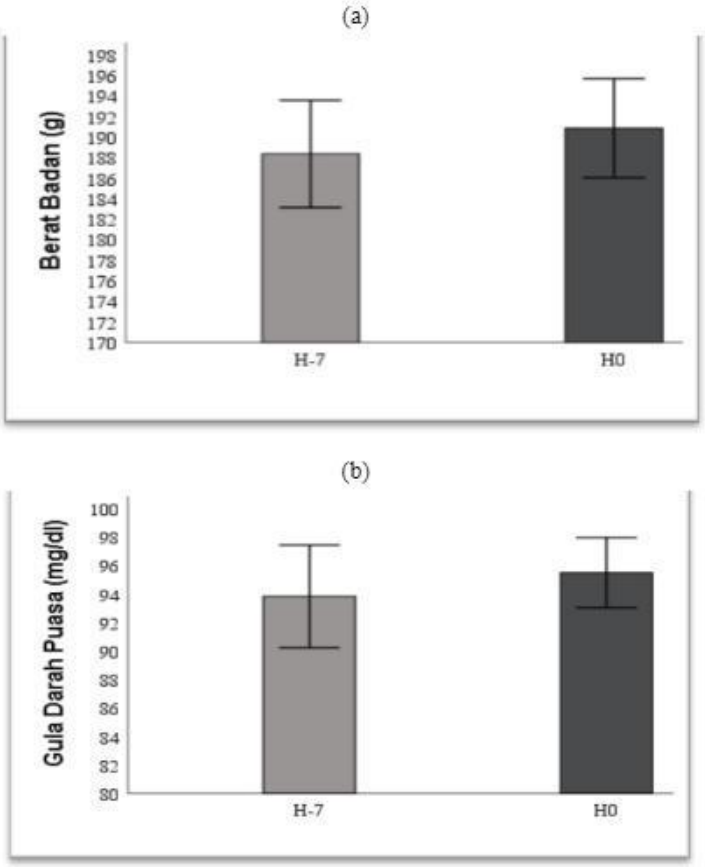
Penelitian ini telah lulus uji etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dengan nomor 083/EC/KPK-FKIK/2022.

5.1 Karakteristik Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar, berjenis kelamin jantan dengan berat badan ± 200 gram, dan usia sekitar tiga bulan yang berasal dari *Rattus Breeding Center* Malang. Tikus diletakkan di kandang pada suhu ruangan 25°C dan diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberikan pakan standar 40g/tikus/hari dan air dengan 12 jam siklus gelap-terang. Berat badan semua tikus di timbang setiap minggu dan glukosa darah puasa tikus diukur menggunakan alat glukometer dengan pengambilan darah dari ekor tikus.

Pada penelitian ini tikus dikelompokkan menjadi lima kelompok yaitu tikus kontrol normal adalah tikus yang tidak diinjeksi STZ, tikus kontrol diabetes mellitus adalah tikus yang diinjeksi STZ dengan dosis 45 mg/kgBB, kelompok tikus model DM yang diberikan ekstrak *Clinacanthus nutans* dengan dosis 100 mg/kgBB (P1), kelompok tikus model DM yang diberikan ekstrak *Clinacanthus nutans* dengan dosis 200 mg/kgBB (P2), dan kelompok tikus model DM yang diberikan ekstrak *Clinacanthus nutans* dengan dosis 400 mg/kgBB (P3).

Kelompok kontrol diabetes mellitus, P1, P2, dan P3 diinjeksi STZ. Tikus yang terdiagnosis DM dengan GDP >200 mg/dl pada hari ke-7, berat badan ± 200 gram, tidak cacat, sehat dan bergerak aktif dimasukkan dalam kriteria inklusi. Tikus yang tidak terdiagnosa DM dan tikus yang mati selama diberi perlakuan dieksklusi dari penelitian. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 30 ekor tikus, masing-masing 6 ekor tikus pada setiap kelompok perlakuan.



Gambar 5.1 Perbandingan Berat Badan (a) dan Gula Darah Puasa (b) Tikus Kontrol Normal Sebelum Injeksi Buffer Sitrat dan Hari ke-7 Setelah Injeksi Buffer Sitrat.

Keterangan :

n : 6
H-7 : Sebelum injeksi buffer sitrat
H0 : Hari ke-7 setelah injeksi buffer sitrat

Perbandingan berat badan 6 hewan coba pada kelompok kontrol normal adalah 188,33 ± 4,97 gram sebelum injeksi buffer sitrat (H-7) meningkat menjadi 190,83 ± 4,56 gram pada hari ke-7 setelah injeksi buffer sitrat (H0) (Gambar 5.1 a). Data berat badan sampel H-7 dan H0 kemudian diuji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* didapatkan hasil 0,794 pada H-7 dan 0,836 pada H0, menunjukkan hasil (p >0,05), sehingga data dinyatakan terdistribusi normal. Sedangkan perbandingan gula darah puasa 6 hewan coba pada kelompok kontrol normal yaitu 93,83 ± 3,43 mg/dL sebelum injeksi buffer sitrat (H-7) meningkat menjadi 95,50 ± 2,34 mg/dL pada hari ke-7 setelah injeksi buffer sitrat (H0) (Gambar 5.1 b). Data gula darah puasa sampel H-7 dan H0 kemudian diuji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* didapatkan hasil 0,377 pada H-7 dan 0,614 pada H0, karena (p >0,05) maka data dinyatakan terdistribusi normal.

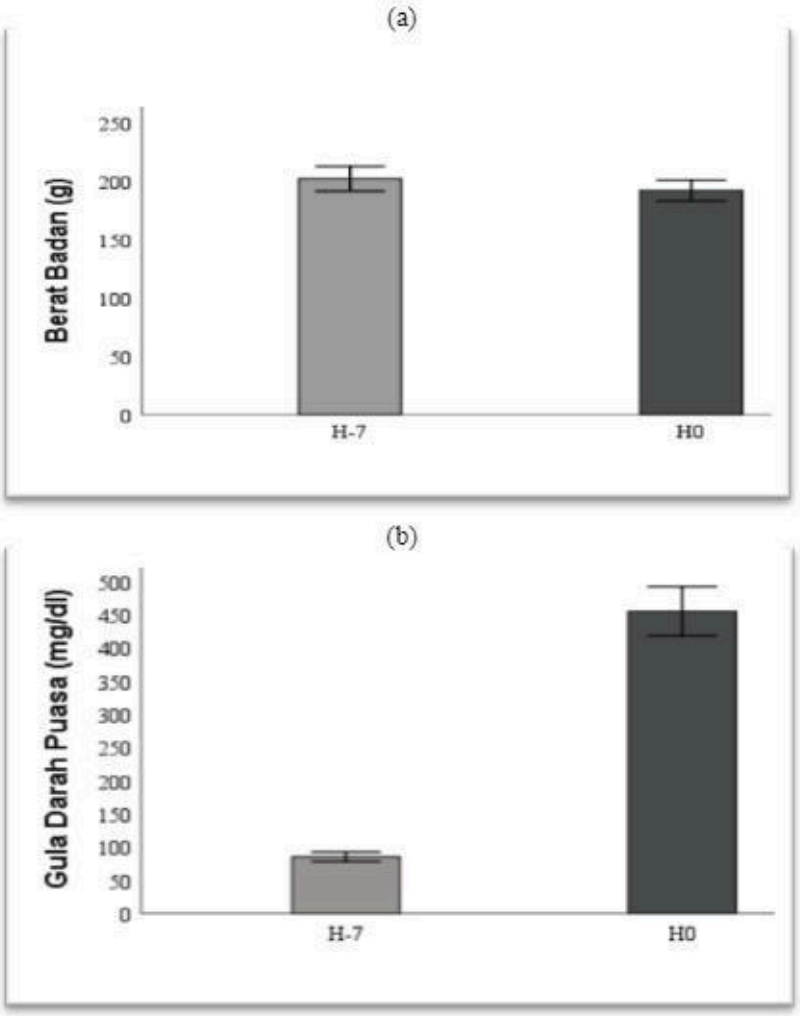
Tabel 5.1 Rata-Rata Berat Badan dan Gula Darah Puasa Tikus Kontrol Normal

	Pengamatan	Mean ± SD
BB (gram)	H-7	188,33 ± 4,97
	H0	190,83 ± 4,56
GDP (mg/dL)	H-7	93,83 ± 3,43
	H0	95,50 ± 2,34

Keterangan :
BB : Berat badan
GDP : Gula darah puasa
H-7 : Sebelum injeksi buffer sitrat
H0 : Hari ke-7 setelah injeksi buffer sitrat

Uji parametrik *paired t-test* perlu dilakukan karena data berat badan dan gula darah puasa terdistribusi normal (p >0,05). Setelah dilakukan uji *paired t-test* didapatkan hasil BB 0,146 dan GDP 0,164. Hasil uji *paired*

t-test BB dan GDP tikus kontrol normal sebelum injeksi buffer sitrat (H-7) dan setelah injeksi buffer sitrat (H0) memiliki perbedaan tidak signifikan (p >0,05) sehingga dinyatakan benar sebagai tikus kontrol normal karena 6 tikus dengan GDP < 200 mg/dL.



Gambar 5.2 Perbandingan Berat Badan (a) dan Gula Darah Puasa (b) Tikus Kontrol Diabetes Mellitus Sebelum Injeksi *Streptozotocin* dan Hari ke-7 Setelah Injeksi *Streptozotocin*.

Keterangan :

n : 24
H-7 : Sebelum injeksi *Streptozotocin*
H0 : Hari ke-7 setelah injeksi *Streptozotocin*

Perbandingan berat badan 24 hewan coba pada kelompok kontrol diabetes melitus adalah 201,63 ± 25,04 gram sebelum injeksi *Streptozotocin* (H-7) menurun menjadi 191,67 ± 21,13 gram pada hari ke-7 setelah injeksi *Streptozotocin* (H0) (Gambar 5.2 a). Data berat badan sampel H-7 dan H0 kemudian diuji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* didapatkan hasil 0,08 pada H-7 dan 0,25 pada H0 (p >0,05) distribusi data normal. Selanjutnya, dilakukan uji *paired t-test* didapatkan hasil p = 0,004 (p <0,05) berbeda signifikan. Perbandingan rata-rata gula darah puasa 24 hewan coba pada kelompok kontrol diabetes melitus adalah 85,33 ± 16,87 mg/dL sebelum injeksi *Streptozotocin* (H-7) meningkat menjadi 454,58 ± 87,61 mg/dL setelah injeksi *Streptozotocin* (H0) (Gambar 5.2 b).

Tabel 5.2 Rata-Rata Berat Badan dan Gula Darah Puasa Tikus Kontrol Diabetes Melitus

	Pengamatan	Mean ± SD
BB (gram)	H-7	201,63 ± 25,04
	H0	191,67 ± 21,13
GDP (mg/dL)	H-7	85,33 ± 16,87
	H0	454,58 ± 87,61

Keterangan :
BB : Berat badan
GDP : Gula darah puasa
H-7 : Sebelum injeksi *Streptozotocin*
H0 : Hari ke-7 setelah injeksi *Streptozotocin*

Data GDP tikus kontrol sebelum dan setelah injeksi STZ kemudian diuji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* didapatkan p = 0,024 (sebelum injeksi STZ) dan p = 0,137 (setelah injeksi STZ). Hasil gula darah puasa tikus sebelum injeksi STZ (p <0,05) data dinyatakan tidak terdistribusi

normal. Uji parametrik tidak dapat dilakukan karena data tidak normal, maka dilakukan uji nonparametrik yaitu uji *wilcoxon* alternatif dari uji *paired t-test*. Hasil uji *wilcoxon* didapatkan p = 0,000 menyatakan adanya perbedaan signifikan antara gula darah puasa sebelum dan setelah injeksi STZ karena nilai (p <0,05).

5.2 Efek Pemberian *Clinacanthus nutans* terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Hepar

Pada penelitian ini kadar SOD hepar tikus didapatkan melalui pengukuran supernatant jaringan hepar dengan metode spektrofotometri. Nilai absorbansi sampel didapatkan pada panjang gelombang 550 nm.

Tabel 5.3. Rata-Rata Kadar Total SOD Hepar Tikus Diabetes Mellitus yang Diberi Ekstrak Etanol Daun *Clinacanthus nutans*.

Kelompok	Kadar SOD Hepar (U/mgprot)
K1	1410.11 ± 26.93
K2	429.87 ± 97.01
P1	629.82 ± 235.76
P2	733.35 ± 221.95
P3	970. 36 ± 195.67

Keterangan :
K1 = Kontrol normal; K2 = Kontrol diabetes mellitus; P1 = Perlakuan 1 (tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 100 mg/kgBB); P2 = Perlakuan 2 (tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 200 mg/kgBB); P3 = Perlakuan 3 (tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 400 mg/kgBB).

Hasil pengukuran rata-rata kadar total SOD hepar dari lima kelompok perlakuan didapatkan kelompok tikus kontrol normal yang tidak diinjeksi STZ (K1) memiliki kadar SOD hepar tertinggi, yaitu 1410,11 ± 26,97 U/mgprot sementara tikus kontrol diabetes melitus (K2)

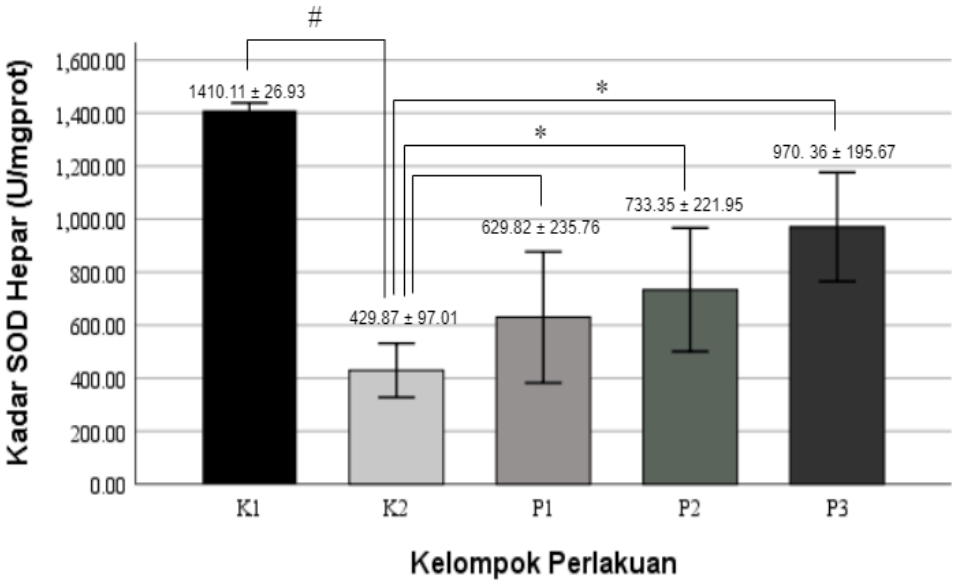
memiliki kadar SOD hepar paling rendah yaitu 429,87 ± 97,01 U/mgprot. Diantara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans*, didapatkan tren peningkatan kadar total SOD hepar dari kelompok P1-3. Dimana kelompok perlakuan 1 dengan dosis ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 100 mg/kgBB memiliki kadar SOD sebesar 629.82 ± 235.76 U/mgprot, kemudian disusul oleh kelompok perlakuan 2 dengan dosis ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 200 mg/kgBB yang memiliki kadar SOD sebesar 733.35 ± 221.95 U/mgprot lalu disusul oleh kelompok perlakuan 3 dengan dosis ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 400 mg/kgBB yang memiliki kadar SOD sebesar 970.36 ± 195.67 U/mgprot.

Data kemudian diuji normalitas atau *Saphiro Wilk* menunjukkan hasil secara berturut-turut dari kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3 adalah 0,950; 0,391; 0,620; 0,931. Data lalu diuji homogenitas menggunakan uji *Levene* dan didapatkan data tidak homogen dengan nilai p = 0,024 (p < 0,05). Hasil uji menunjukkan data terdistribusi normal (p >0,05) dan tidak homogen (p <0,05) maka dilanjutkan dengan uji non-parametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui hasil penelitian signifikan atau tidak. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan p = 0,000 (p <0,05) yang menunjukkan data signifikan. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc Mann-Whitney U* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan signifikan diantara kelima kelompok perlakuan (Tabel 5.3).

Tabel 5.3. Hasil Uji *Post Hoc Mann-Whitney U* pada Kadar Total SOD Hepar Tikus Diabetes Mellitus yang Diberi Ekstrak Etanol Daun *Clinacanthus nutans*.

Kelompok	*p*				
	K1	K2	P1	P2	P3
K1	-	0,004#	0,004#	0,004#	0,004#
K2		-	0,055	0,025*	0,004*
P1			-	0,337	0,025"
P2				-	0,055
P3					-

Keterangan :
K1 = kontrol normal; K2 = kontrol diabetes mellitus; P1 = perlakuan 1 (tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 100 mg/kgBB); P2 = perlakuan 2 (tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 200 mg/kgBB); P3 = perlakuan 3 (tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 400 mg/kgBB); # = signifikan dibandingkan dengan K1; * = signifikan dibandingkan dengan K2; " = signifikan dibandingkan dengan P1.



Gambar 5.3 Grafik Rata-Rata Kadar Total SOD Hepar Tikus Diabetes Mellitus yang Diberi Ekstrak Etanol Daun *Clinacanthus nutans*.

Keterangan :
K1 = Kontrol Normal; K2 = Kontrol Diabetes Mellitus; P1 = Perlakuan 1 (Ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 100 mg/kgBB); P2 = Perlakuan 2 (Ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 200 mg/kgBB); P3 = Perlakuan 3 (Ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 400 mg/kgBB); # : signifikan

dibandingkan dengan K1 (p <0,05); * : signifikan dibandingkan dengan K2 (p <0,05). n = 30.

Kelompok kontrol normal (K1) dengan kelompok kontrol K2 dan P1-3 berbeda signifikan dengan nilai p = 0,004 (p <0,05). Menandakan sebanyak 24 tikus kelompok K2, P1, P2, dan P3 (tikus yang diinjeksi STZ serta diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans*) belum mampu mencapai kadar total SOD hepar tikus kontrol normal. Kelompok P1 dengan dosis ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 100 mg/kgBB tidak signifikan dengan kelompok K2 p = 0,055 (p <0,05). Kelompok kontrol diabetes mellitus (K2) berbeda signifikan dengan kelompok P2 dan P3. Dimana kelompok perlakuan 2 dengan dosis ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 200 mg/kgBB nilai signifikan p = 0,025 (p <0,05) lalu disusul oleh kelompok perlakuan 3 dengan dosis ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* 400 mg/kgBB nilai signifikan p = 0,004 (p <0,05).

Kelompok P1 tidak berbeda signifikan dengan P2 karena nilai p = 0,337 (p >0,05), pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* antara dosis 100 mg/kgBB dengan dosis 200 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar total SOD hepar yang tidak jauh berbeda. Sedangkan kelompok P3 berbeda signifikan dibandingkan kelompok P1 dengan nilai p = 0,025 (p <0,05). Pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 400 mg/kgBB meningkatkan kadar total SOD hepar lebih signifikan dibandingkan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 100 mg/kgBB. Kelompok P2 tidak berbeda signifikan dengan kelompok P3 menunjukkan nilai p = 0,055 (p >0,05). Pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 400 mg/kgBB meningkatkan kadar total SOD hepar tidak signifikan dibandingkan

ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 200 mg/kgBB.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih *Rattus Norvegicus* strain Wistar, dengan jenis kelamin jantan dan berat badan ± 200 gram. Tikus yang digunakan berusia sekitar tiga bulan yang didapatkan dari *Rattus Breeding Center* Malang. *Rattus norvegicus* dipilih sebagai subjek pada penelitian ini karena bertoleransi tinggi terhadap induksi DM menggunakan STZ (Prabaningsih dkk., 2016).

Rattus norvegicus menjadi hewan coba paling banyak digunakan dalam penelitian diabetes melitus karena memiliki persamaan patogenesis dengan diabetes melitus pada manusia (Ghasemi dkk., 2014). Bentuk fisik *Rattus norvegicus* berukuran relatif besar memudahkan pembedahan atau transplantasi organ (Suckow dkk., 2017). Penelitian ini menggunaan *Rattus norvegicus* berjenis kelamin jantan karena berdasarkan penelitian Rahmawati (2014) diketahui bahwa *Rattus norvegicus* betina memiliki hormon estrogen lebih tinggi dibandingkan *Rattus norvegicus* jantan. Hormon estrogen mampu melindungi sistem hepar karena estrogen memiliki aktivitas antioksidan yakni dengan menginduksi pelepasan *superoxide dismutase* (SOD) di mitokondria dan sitosol serta *glutathione peroxide* (GPx) sebagai antioksidan (Cervellati & Bergamini, 2016).

Rattus norvegicus berusia kurang lebih tiga bulan dengan berat badan ± 200 gram dipilih karena usia tikus > 60 hari sudah dianggap dewasa untuk

menghindari bias penelitian akibat regenerasi sel yang cepat pada tikus muda (Ghasemi dkk., 2021) dan berat badan dapat menjadi indikator kesehatan atau perkembangan hewan coba. Berat badan tikus ± 200 gram menjadi berat badan yang aman setelah dilakukan induksi DM, karena dapat menyebabkan penurunan berat badan setelah induksi DM (Munjiati, 2021).

Hasil pemeriksaan rerata berat badan kelompok tikus kontrol DM sebelum diinjeksi STZ dengan kelompok tikus kontrol DM setelah diinjeksi STZ dosis 45 mg/kgBB secara intraperitoneal mengalami penurunan. Berat badan tikus sebelum diinjeksi STZ menunjukkan hasil 201,63 ± 25,04 gram dan berat badan tikus setelah diinjeksi STZ menjadi 191,67 ± 21,13 gram. Penurunan berat badan terjadi setelah induksi DM dengan STZ menyebabkan kerusakan sel β pankreas sehingga tubuh mengalami penurunan sekresi insulin (Ozougwu, 2013). Kurangnya sekresi insulin mengakibatkan peningkatan glukosa darah (Tjandrawinata, 2016). Peningkatan glukosa darah yang tidak diimbangi dengan transport glukosa ke sel menyebabkan aktifnya proses glukoneogenesis secara berlebihan sehingga terjadi perombakan lemak dan protein untuk memenuhi kebutuhan glukosa sel menyebabkan turunnya berat badan tikus (Rias & Sutikno, 2017).

Hasil pemeriksaan rerata GDP kelompok tikus kontrol DM sebelum diinjeksi STZ dengan kelompok tikus kontrol DM setelah diinjeksi STZ dosis 45 mg/kgBB mengalami peningkatan. Gula darah puasa tikus sebelum diinjeksi STZ menunjukkan hasil 85,33 ± 16,87 mg/dL dan GDP tikus setelah diinjeksi STZ menjadi 454,58 ± 87,61 mg/dL. Data selanjutnya diuji komparasi menggunakan uji nonparametrik *wilcoxon* karena hasil uji

normalisasi menggunakan uji *Saphiro Wilk* data tidak terdistribusi normal. Uji *wilcoxon* menghasilkan p = 0,000 (p <0,05) data memiliki perbedaan signifikan antara GDP sebelum dan setelah injeksi STZ.

Peningkatan GDP setelah injeksi STZ menandakan STZ berhasil menginduksi DM pada hewan coba. *Streptozotocin* bekerja dengan memberikan efek toksik pada sel β pankreas. Sel β pankreas secara aktif mengambil glukosa sehingga spesifik terhadap STZ yang memiliki gugus glukosa. *Streptozotocin* masuk ke dalam sel β pankreas melalui transporter glukosa (GLUT2) (Xu dkk., 2021). *Streptozotocin* merupakan nitrosourea yang kurang lipofilik sehingga memerlukan transporter glukosa (GLUT2) untuk melewati membran sel dan STZ hanya mampu memberi efek toksik pada organ yang mengekspresikan transporter GLUT2 (Grieb, 2016). Patomekanisme tersebut menjadi salah satu penyebab hasil pemeriksaan GDP tinggi pada tikus setelah injeksi STZ (Husna dkk., 2016).

6.2 Efek Pemberian Ekstrak *Clinacanthus nutans* terhadap Kadar SOD Hepar Tikus Model Diabetes Melitus

Kelompok hewan coba K1, K2, P1, P2 dan P3 diberi perlakuan yang berbeda selama 28 hari menunjukkan kadar SOD yang berbeda-beda. Pada kelompok kontrol normal (K1) atau kelompok yang tidak diinjeksi STZ menunjukkan kadar SOD tertinggi, yaitu 1410,11 ± 26,97 U/mgprot sementara tikus kontrol diabetes mellitus (K2) yang telah diinjeksi STZ memiliki kadar SOD paling rendah yaitu 429,87 ± 97,01 U/mgprot. Data kadar total SOD hepar K1 dan K2 menghasilkan p = 0,000 (p <0,05), data dinyatakan terdapat perbedaan signifikan antara GDP sebelum dan setelah

injeksi STZ. Hasil ini menunjukkan bahwa hari ke-7 setelah injeksi STZ pada K2 telah berhasil membuat tikus mengalami DM dan memiliki kadar total SOD hepar paling rendah diantara kelompok lain.

Penurunan kadar SOD pada tikus DM didukung oleh penelitian Imam dkk. (2019) yaitu tikus DM akan mengalami peningkatan stress oksidatif. Kelompok tikus model DM yang mendapatkan ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* mengalami peningkatan kadar SOD hepar. Kelompok P1 dan P2 secara signifikan meningkatkan kadar SOD hepar tikus model DM. Kelompok P2 adalah tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 200 mg/kgBB memiliki kadar SOD total 733,35 ± 221,95 U/mgprot dan kelompok P3 merupakan tikus DM yang diberi ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 400 mg/kgBB memiliki kadar SOD total 970,36 ± 195,67 U/mgprot. Peningkatan kadar total SOD hepar dapat terlihat dari persentasi hasil rerata kadar total SOD hepar secara berurut, kelompok perlakuan P2 dan P3 sebesar 17,52% dan 23,23%.

Peningkatan kadar SOD hepar pada hewan coba seiring dengan peningkatan dosis *Clinacanthus nutans* sejalan dengan penelitian Imam dkk. (2019) dimana tikus DM yang diberi ekstrak daun *Clinacanthus nutans* dengan dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar SOD. Peningkatan kadar SOD yang signifikan terjadi pada pemberian dosis 200 mg/kgBB. Penelitian yang dilakukan Nurulita dkk. (2007) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid dan steroid.

Penelitian Ng dkk. (2022) menggunakan tikus yang diinduksi dengan tert-butil hidroperoksida (t-BOOH) dan diberi ekstrak daun *Clinacanthus*

nutans dapat menurunkan ROS. Produksi ROS pada sel hepar juga berkurang secara signifikan. Penelitian Ng dkk. (2022) memperoleh bahwa ekstrak methanol daun *Clinacanthus nutans* memiliki kandungan fenolik (3,5 kali lipat) dan flavonoid (24 kali lipat) lebih tinggi dibandingkan ekstrak methanol batang *Clinacanthus nutans*. Baik ekstrak daun maupun batang *Clinacanthus nutans* memiliki aktivitas menangkap radikal bebas atau memiliki potensi sebagai antioksidan.

Penelitian menggunakan rattus norvegicus strain wistar yang diinduksi fruktosa dan pakan tinggi lemak menunjukkan kerja senyawa flavonoid sebagai penghambat enzim glukosidase di usus kecil. Penghambatan enzim glukosidase dapat menunda penyerapan karbohidrat dari makanan sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah (Retnaningsih dkk., 2019). Penelitian Chelyn dkk. (2017) memperoleh kandungan *Clinacanthus nutans* seperti flavonoid dapat menurunkan kemampuan Keap 1 untuk mengikat Nrf2. Jika Nrf2 memasuki nukleus maka akan terekspresikan gen yang mengandung *antioxidant response elements* (ARE) yang berfungsi untuk mengkode enzim antioksidan sehingga meningkatkan pelepasan antioksidan. *Antioxidant response elements* mengaktivasi antioksidan seperti katalase (CAT) dan *superoxide dismutase* (SOD) (Chambel dkk., 2015).

Penelitian Azemi dkk. (2021) menggunakan tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi diet tinggi lemak dan diberi ekstrak methanol daun *Clinacanthus nutans.* Hasil penelitian didapatkan peningkatan kadar SOD jaringan aorta tikus yang diukur menggunakan kit uji SOD *EnzyChrome*. Penelitian Shinta & Kusuma (2015) juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis *Clinacanthus nutans* sebanding dengan peningkatan kadar SOD. Hal ini

menandakan bahwa peningkatan dosis ekstrak daun *Clinacanthus nutans* sama dengan meningkatkan jumlah senyawa fitokimia termasuk flavonoid yang berfungsi sebagai pensintesis antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase* (SOD).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini hanya mengidentifikasi pengaruh ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* pada kadar enzim antioksidan endogen yaitu *superoxide dismutase* (SOD). Kelompok enzim antioksidan endogen lainnya yang dapat diuji adalah *catalase* (CAT) dan *glutation peroksidase* (GPx).

6.4 Integrasi Islam

Seorang Muslim wajib untuk menjaga dan merawat tubuh menjadi lebih kuat dan sehat agar senantiasa mendekatkan diri kepada Allah SWT. Manusia ciptaan Allah SWT tidak luput dari penyakit yang mengancam tubuh sehingga diperlukan pengobatan yang sesuai dengan penyakit yang diderita. Kesembuhan tidak hanya didapatkan dari obat semata, tumbuh-tumbuhan disekitar kita memiliki beragam jenis dan manfaat yang dapat dijadikan sebagai pengobatan bahan herbal.

Allah Swt berfirman pada QS. Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

(أَوَلَمْ يَرَ وْ اْ إِلَى اْلأَرْضِ كَمْ أَنبَتْنَا فِهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِ يْمٍ (الشعراء:٧

Artinya: "*Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*" (Q.S. Asy-Syu'ara: 7).

Dalam Al-Qur'an telah tertera bahwa tumbuhan adalah anugerah khusus yang Allah Swt berikan kepada umat manusia. Allah Swt telah menciptakan di alam segala macam tumbuhan dari berbagai jenis yang memiliki khasiat dan manfaat yang berbeda. Manusia dianjurkan untuk memanfaatkan produk tumbuh-tumbuhan yang telah Allah sediakan di alam untuk diolah dan dimodifikasi sesuai keperluan (Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an dkk., 2011). Penggunaan tumbuh-tumbuhan yang memiliki aktivitas antidiabetes semakin diminati masyarakat karena salah satu manfaatnya untuk mengurangi efek samping penggunaan obat (Yusro dkk., 2020). Tanaman yang dapat dikembangkan sebagai antidiabetes yaitu dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) (Tambaru dkk., 2019).

Berdasarkan tafsir Fi Zhilalil Qur'an, Allah Swt telah menciptakan tumbuh-tumbuhan itu mulia dengan segala kehidupan yang ada di dalamnya yang bersumber dari Allah Yang Mahamulia. Ungkapan ini mengisyaratkan kepada jiwa untuk menerima ciptaan Allah dengan sikap yang memuliakan, memperhatikan, dan memperhitungkan, bukan menghinakan, melalaikan, dan meremehkannya. Kami telah tumbuhkan di sana dari setiap pasang
tumbuhan dengan berbagai macam jenisnya yang kesemuanya tumbuh subur
lagi bermanfaat? Sesungguhnya pada yang demikian itu hebatnya benar-benar terdapat suatu ayat yakni tanda yang membuktikan adanya Pencipta Yang Maha Esa, serta m em buktikan pula kuasa-N ya m enghidupkan dan
membangkitkan siapa yang telah mati. Sayang, mereka enggan memperhatikan sehingga mereka tidak menemukan tanda itu dan tidaklah kebanyakan mereka akan termasuk orang-orang mukmin. Dan yakni padahal

sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah Yang Maha Perkasa Yang tidak terkalahkan kehendakNya bahkan dapat memaksakannya lagi Maha Penyayang sehingga menghidangkan bukti itu dan melimpahkan aneka rahmat-Nya.

Berikut hadits-hadits yang mendukung seorang Muslim mengobati penyakit yang dideritanya diantaranya :

Pertama, hadits riwayat Abu Dawud :

إِنَّ اللهَ أَنْزَلَ الدَّوَ اءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلاَ تَدَاوَوْا بحَرَامٍ

Artinya : “Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obatnya, demikian pula Allah menjadikan bagi setiap penyakit ada obatnya. Maka berobatlah kalian dan janganlah berobat dengan yang haram” (HR.Abu Dawud).

Hadits tersebut menunjukkan bahwa umat Islam boleh mengobati penyakitnya. Sebab, Allah SWT. Menurunkan penyakit disertai juga dengan diturunkanya obat sehingga seorang Muslim diizinkan untuk mengobati penyakit yang dideritanya.

Hadits tersebut menyatakan bahwa dengan seorang Muslim diizinkan mengobati penyakit yang dideritanya karena setiap penyakit pasti ada obatnya. Jika obat yang digunakan sesuai dengan penyakit yang dideritanya maka dengan izin Allah SWT maka penyakit tersebut akan hilang dan mendapat kesembuhan. Namun waktu yang diperlukan untuk mencapai kesembuhan berbeda-beda pada setiap penyakit, jika penyebab dari suatu penyakit belum diketahui maka memerlukan waktu penyembuhan yang lebih lama.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dapat meningkatkan kadar total SOD hepar pada tikus model diabetes mellitus. Pemberian ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans* dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar SOD hepar pada tikus model diabetes mellitus.

7.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran yang dapat diberikan kepada peneliti selanjutnya, yaitu :

1. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak *Clinacanthus nutans* terhadap enzim antioksidan endogen seperti *catalase* (CAT).
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh ekstrak *Clinacanthus nutans* terhadap enzim antioksidan endogen seperti *glutation peroksidase* (GPx)..

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah N, & Kasim K F. (2017). In-vitro antidiabetic activity of *Clinacanthus nutans* extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, *9*(6). https://doi.org/10.25258/phyto.v9i6.8189

Adhikary, M., Mukhopadhyay, K., & Sarkar, B. (2021). Flavonoid-rich wheatgrass (*Triticum aestivum L.*) diet attenuates diabetes by modulating antioxidant genes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Food Biochemistry*, *45*(4). https://doi.org/10.1111/jfbc.13643

Alam, A., Ferdosh, S., Ghafoor, K., Hakim, A., Juraimi, A. S., Khatib, A., & Sarker, Z. I. (2016). *Clinacanthus nutans*: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry. In *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (Vol. 9, Issue 4, pp. 402–409). https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.03.011

Alam, M. A., Zaidul, I. S. M., Ghafoor, K., Sahena, F., Hakim, M. A., Rafii, M. Y., Abir, H. M., Bostanudin, M. F., Perumal, V., & Khatib, A. (2017). In vitro antioxidant and, α-glucosidase inhibitory activities and comprehensive metabolite profiling of methanol extract and its fractions from *Clinacanthus nutans*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *17*(1). https://doi.org/10.1186/s12906-017-1684-5

Amarowicz, R. (2007). Tannins: The new natural antioxidants. In *European Journal of Lipid Science and Technology* (Vol. 109, Issue 6, pp. 549–551). https://doi.org/10.1002/ejlt.200700145

Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan dalam dermatologi. *JKK*, *4*(1), 39–48.

Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress: A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *24*(5), 547–553. https://doi.org/10.1016/J.JSPS.2015.03.013

Azemi, A. K., Mokhtar, S. S., Sharif, S. E. T., & Rasool, A. H. G. (2021). *Clinacanthus nutans* attenuates atherosclerosis progression in rats with type 2 diabetes by reducing vascular oxidative stress and inflammation. *Pharmaceutical Biology*, *59*(1), 1432–1440. https://doi.org/10.1080/13880209.2021.1990357

Baynest, H. W. (2015). Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, *06*(05). https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541

Bhatia, H., Kaur, J., Nandi, S., Gurnani, V., Chowdhury, A., Reddy, P.H., Vashishtha, A., Rathi, B., 2013. A review on *Schleichera oleosa*: Pharmacological and environmental aspects. *Journal of Pharmacy Research*. 224–229

Byrne, C. D., & Targher, G. (2015). NAFLD: Penyakit multisistem. *Journal of Hepatology*, *62*.

Cahyani, I. M., Anggraeny, E. N., Ananingsih, V. K., & Retnaningsih, C. (2021). Formula optimum mikroenkapsulasi fraksi air daun dandang gendis (*Clinacanthus Nutans*).

Cepas, V., Collino, M., Mayo, J. C., & Sainz, R. M. (2020). Redox signaling and advanced glycation endproducts (AGEs) in diet-related diseases. *Antioxidants 2020, Vol. 9, Page 142*, *9*(2), 142. https://doi.org/10.3390/ANTIOX9020142

Cervellati, C., & Bergamini, C. M. (2016). Oxidative damage and the pathogenesis of menopause related disturbances and diseases. In *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (Vol. 54, Issue 5, pp. 739–753). https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0807

Chambel, S. S., Santos-Gonçalves, A., & Duarte, T. L. (2015). The dual role of Nrf2 in nonalcoholic fatty liver disease: Regulation of antioxidant defenses and hepatic lipid metabolism. *BioMed Research International*, *2015*. https://doi.org/10.1155/2015/597134

Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) sebagai sumber saponin. *Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, *7*.

Corder, Gregory W., & Foreman, Dale I. (2014). Nonparametric statistics: A step-bystep approach. John Wiley & Sons.

Danastri, A. D. T., & Indriawati, R. (2020). Efektivitas gedebog pisang (*Musa sp*.) terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) pada diabetes melitus. *Prosiding UMY Grace*, *1*(1), 69-72.

Deti Andasari, S., Hana Mustofa, C., Zahra, S., & Studi DIII Farmasi STIKES Muhammadiyah Klaten, P. (2020). Standarisasi spesifik dan non spesifik ekstrak etil asetat daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*). *Journal Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Klaten* (Vol. 15, Issue 2).

Fareed, M., 2017. Life tyle Related Risk Factors of Type 2 Diabetes Mellitus and Its Increased Prevalence in Saudi Arabia: A Brief Review. *International Journal of Medical Research & Health Sciences.* 6 (3): 125-132.

Fathul Yusro, Resky Nanda Prakana, Indah Budiastutik, & Yeni Mariani. (2020). Pemanfaatan Tumbuhan Obat oleh Masyarakat Sekitar Taman Wisata Alam (TWA) Bukit Kelam, Kabupaten Sintang, Kalimantan Barat. *Jurnal Sylva Lestari* , *8*(2), 255–272.

Fatimah, R. N. (2015). Diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Majority*, *4*(5).

Firdaus, F., Rimbawan, R., Marliyati, S. A., & Roosita, K. (2016). Model tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin-sukrosa untuk pendekatan penelitian diabetes melitus gestasional. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, *12*(1), 29-34.

Forouhi, N. G., & Wareham, N. J. (2019). Epidemiology of diabetes. In *Medicine (United Kingdom)* (Vol. 47, Issue 1, pp. 22–27). https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.10.004

Freeman, Starr, D.A. dan O'connor (2016) "HHS Public Access," *Physiology & behavior*, 176(1), hal. 139–148. doi:10.1007/s11892-019-1176-8.

Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 17, pp. 1–34). https://doi.org/10.3390/ijms21176275

Garg, S. S., & Gupta, J. (2022). Polyol pathway and redox balance in diabetes. *Pharmacological Research*. *182*. https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2022.106326

Gonzalez, A., Huerta-Salgado, C., Orozco-Aguilar, J., Aguirre, F., Tacchi, F., Simon, F., & Cabello-Verrugio, C. (2020). Role of Oxidative Stress in Hepatic and Extrahepatic Dysfunctions during Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2020). https://doi.org/10.1155/2020/1617805

Goswami, S., 2017. Phytochemical and Pharmacological Review of *Schleichera oleosa* (Lour.) Oken: A Traditional Plant with Enormous Biological Activity. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 6 (10): 295–309

Gupta, D. (2015). Methods for Determination of Antioxidant Capacity: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *6*(2), 546. https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66

Ghasemi, A., Khalifi, S., Jedi, S., 2014. Streptozotocin nicotinamide induced rat model of type 2 diabetes (review). *Acta Physiologica. Hungarica*. 101 (4): 408–420

Grieb, P. (2016). Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. In *Molecular Neurobiology* (Vol. 53, Issue 3, pp. 1741–1752). https://doi.org/10.1007/s12035-015-9132-3

Ghasemi, A., Jeddi, S., & Kashfi, K. (2021). The laboratory rat: Age and body weight matter. In *EXCLI Journal* (Vol. 20, pp. 1431–1445). https://doi.org/10.17179/excli2021-4072

Handayani, W., Rudijanto, A., Rasjad Indra, M., Studi, P., Keperawatan, I., Tinggi, S., Kesehatan, I., & Malang, K. (n.d.). Susu Kedelai Menurunkan Resistensi Insulin pada Model Diabetes Melitus Tipe 2

Handajani, F. (2019). Oksidan dan antioksidan pada beberapa penyakit dan proses penuaan. *Zifatama Jawara*.

Haerani, A., Chaerunisa, A. Y., & Subarnas, A. (2018). Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka*, *16*(2), 135-151.

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*(4), 287–293. https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001

Indonesia, P. E. (2015). Pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di Indonesia. *Pb. Perkeni*.

Imam, M., Ismail, M., George, A., Chinnappan, S. M., & Yusof, A. (2019). Aqueous leaf extract of *Clinacanthus nutans* improved metabolic indices and sorbitol-related complications in type II diabetic rats (T2D). *Food Science and Nutrition*, *7*(4), 1482–1493. https://doi.org/10.1002/fsn3.988

Jain, C., Khatana, S., & Vijayvergia, R. (2019). Bioactivity of Secondary Metabolites of Various Plants: A Review. *Article in International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *10*(2), 494. https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(2).494-04

Kemenkes RI, K. K. R. I. (2018). Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Kementrian Kesehatan RI, 1-587. https://dinkes.kalbarprov.go.id/wp-content/uploads/2019/03/Laporan-Riskesdas-2018-Nasional.pdf

Kerner, W. and Brückel, J. (2014). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 122(07), pp.384-386.

Khoo, L. W., Kow, A. S. F., Maulidiani, M., Lee, M. T., Tan, C. P., Shaari, K., Tham, C. L., & Abas, F. (2018). Hematological, biochemical, histopathological and 1H-NMR Metabolomics application in acute toxicity evaluation of *Clinacanthus nutans* water leaf extract. *Molecules*, *23*(9). https://doi.org/10.3390/molecules23092172

Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., Huypens, P., Beckers, J., de Angelis, M. H., Schürmann, A., Bakhti, M., Klingenspor, M., Heiman, M., Cherrington, A. D., Ristow, M., Lickert, H., Wolf, E., Havel, P. J., Müller, T. D., & Tschöp, M. H. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 14, Issue 3, pp. 140–162). https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.161

Kusbandari, A., & Susanti, H. (2017). Kandungan Beta Karoten dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap DPPH (1,1-Difenil 2-Pikrihydrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis melo var. cantalupensis L*) Secara Spektrofotometri UV-Visibel. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, *14*(1), 37–42. https://doi.org/10.24071/jpsc.141562

Kurniati, Ruth Indah. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Buas Buas (*Premna cordifolia* Linn.) dengan Metode DPPH. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.

Knight, J et al. 2017. Diabetes Management 1: Disease Types, Symptoms and Diagnosis. Nursing Times. 113(4): 40-44.

Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, Badan Litbang, Diklat Kementerian Agama RI, & Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). (2011). Tumbuhan Dalam Perspektif Al-Qur'an dan Sains.

Medina, S., Wibudi, A., & Sandra, O. (2018). Hubungan Obesitas Sentral Dengan Gambaran Fatty Liver Pada USG Abdomen Di Poliklinik Bank Indonesia Bulan Agustus-The Association Between Central Obesity And Fatty Liver Imaging On Abdominal USG Polyclinic Bank Indonesia August-September 2017. *In Jurnal Kedokteran Yarsi (*Vol. 26, Issue 3).

Mohamed, J., Nazratun Nafizah, A. H., Zariyantey, A. H., & Budin, S. B. (2016). Mechanisms of diabetes induced liver damage: The role of oxidative stress and inflammation. In *Sultan Qaboos University Medical Journal* (Vol. 16, Issue 2, pp. e132–e141). https://doi.org/10.18295/squmj.2016.16.02.002

Munjiati, N.E. (2021) "Pengaruh Pemberian Streptozotocin Dosis Tunggal terhadap Kadar Glukosa Tikus Wistar (Rattus norvegicus)," *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, 9(1), hal. 62–67. doi:10.33992/m.v9i1.1330.

Nadia Asyura, S. N., Hamzah, H., & Shaari, R. M. (2016). Blood Profiles and Histopathological Changes of Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with Ethanol Extracts of *Clinacanthus nutans* Leaf. *Journal of Clinical Toxicology*, *06*(06). https://doi.org/10.4172/2161-0495.1000329

Nirmala Sari, A., Tanaman Rempah Sebagai Sumber Antioksidan Alami, B., Nirmala Sari Biologi, A., Sains dan Teknologi, F., & Ar Raniry Banda Aceh, U. (2016). Berbagai Tanaman Rempah Sebagai Sumber Antioksidan Alami. In *Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology* (Vol. 2, Issue 2). www.jurnal.ar-raniry.com/index.php/elkawnie

Nurulita, Y., Dhanutirto, H., & Soemardji, A. A. (2007). Penapisan Aktivitas dan Senyawa Antidiabetes Ekstrak Air Daun Dandang Gendis *(Clinacanthus nutans)*.

Novitasari, A.E. dan D.Z. Putri. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. Jurnal Sains. 6(12):10-14.

Ogbonnaya Eleazu, C., Chinedum Eleazu, K., Chukwuma, S., & Essien, U. N. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. http://www.jdmdonline.com/content/12/1/60

Ozougwu, O. (2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, *4*(4), 46–57. https://doi.org/10.5897/jpap2013.0001

Panigrahy, S. K., Bhatt, R., & Kumar, A. (2017). Reactive oxygen species: sources, consequences and targeted therapy in type 2 diabetes. In *Journal of Drug Targeting* (Vol. 25, Issue 2, pp. 93–101). https://doi.org/10.1080/1061186X.2016.1207650

Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional. Science.* 5 (47): 1-15.

Paschou, S. A., Papadopoulou-Marketou, N., Chrousos, G. P., & Kanaka-Gantenbein, C. (2018). On type 1 diabetes mellitus pathogenesis. Endocrine connections, *7*(1), R38-R46.

Permadi, I. G. W. D. S. (2013). Keanekaragaman Tanaman Obat sebagai Larvasida dalam Upaya Pengendalian Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD). *Sains Dan Teknologi Lingkungan* , *5*.

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. No. 14 Tahun 2016 Tentang Standar Keamanan dan Mutu Minuman Beralkohol

Plows, J. F., Stanley, J. L., Baker, P. N., Reynolds, C. M., & Vickers, M. H. (2018). The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*, *19*(11), 3342.

Prabaningsih, D., Hardani, R., & Author, C. (2016). Potensi Efek Hipoglikemik Kombinasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Hutan (*Eleutherine bulbosa*) dan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) pada Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin dan Potensial Toleransi Glukosa. *Galenika Journal of Pharmacy 8 GALENIKA Journal of Pharmacy*, *2*(1), 8–17.

P'ng, X. W., Akowuah, G. A., & Chin, J. H. (2013). Evaluation of the sub acute oral toxic effect of methanol extract of *Clinacanthus nutans* leaves in rats. *Journal of Acute Disease*, *2*(1), 29–32. https://doi.org/10.1016/s2221-6189(13)60090-6

Rahmawati. (2014). Pengaruh Latihan Fisik Maksimal Akut Terhadap Kadar Estradiol Tikus Putih Betina (Rattus norvegicus strain wistar). *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, *14*.

Ramadan, M. A., Lusiantari, R., & Pramaningtyas, M. D. (2022). Derajat Fibrosis dan Skor Nafld pada Hepar Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 Remaja. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, *9*. https://doi.org/10.32539/JKK.V9I1.15315

Renjini & Dileep. (2017). Spectrophotometry and Spectrometry-Concept and Application. *IJARIIE*, *2*. www.ijariie.com

Retnaningsih, C., Ananingsih, V. K., Cahyani, I. M., & Narasukma A, E. (2017). Formula Optimum Mikroenkapsulasi Fraksi Air Daun Dandang Gendis (Clinacanthus nutans).

Rias, Y. A., & Sutikno, E. (2017). Hubungan antara berat badan dengan kadar gula darah acak pada tikus diabetes mellitus. *Jurnal Wiyata*.

Román-Pintos, L. M., Villegas-Rivera, G., Rodríguez-Carrizalez, A. D., Miranda-Díaz, A. G., & Cardona-Muñoz, E. G. (2016). Diabetic polyneuropathy in type 2 diabetes mellitus: Inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function. In *Journal of Diabetes Research* (Vol. 2016). https://doi.org/10.1155/2016/3425617

Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., & IDF Diabetes Atlas Committee. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*, *157*, 107843.

Shinta, A., & Kusuma, W. (2015). The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata L.*) to Decreased Levels of Malondialdehyde. In *J MAJORITY* | (Vol. 4).

Simanjuntak, E. J., & Zulham, Z. (2020). Superoksida dismutase (SOD) dan Radikal Bebas. *Jurnal Keperawatan dan Fisioterapi (JKF)*, *2*(2), 124–129. https://doi.org/10.35451/jkf.v2i2.342

Situmeang, B., Nuraeni, W., Ibrahim, A.M., 2016. Analysis of secondary metabolite compounds from leaves extract kesambi *(Schleichera oleosa)* and antioxidant activity test. Jurnal Pendidikan Kimia. 8 (3): 164-168.

Suhartati Tati. (2017). Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan spektrometri massa untuk penentuan struktur senyawa organik.

Suckow, M. A., Stewart, K. L., Hickman, D. L., Johnson, J., Vemulapalli, T. H., Crisler, J. R., & Shepherd, R. (2017). Chapter 7 Commonly Used Animal Models. Principles of Animal Research. https://doi.org/10.1016/B978-0-12- 802151-4.00007-4

Setiono, D. D., Wantania, F. E. N., & Polii, E. B. I. (2022). Risk Factors of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adults. *E-CliniC*, *10*(2), 234. https://doi.org/10.35790/ecl.v10i2.37814

Singh, A. K., Rana, H. K., Singh, V., Chand Yadav, T., Varadwaj, P., & Pandey, A. K. (2021). Evaluation of antidiabetic activity of dietary phenolic compound chlorogenic acid in streptozotocin induced diabetic rats: Molecular docking, molecular dynamics, in silico toxicity, in vitro and in vivo studies. *Computers in Biology and Medicine*, *134*. https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104462

Snyder, R. M., & Romanczyk, L. J. (2004). Cocoa extracts prepared from cocoa solids having high cocoa polyphenol contents.

Tambaru, E., Paembonan, S. A., Ura', R., & Tuwo, M. (2019). Analisis Anatomi dan Trikoma Tanaman Obat Dandang Gendis *Clinacanthus nutans (Burm. f.) Lindau*. http://journal.unhas.ac.id

Tabatabaie, P. S., & Yazdanparast, R. (2017). Teucrium polium extract reverses symptoms of streptozotocin-induced diabetes in rats via rebalancing the Pdx1 and FoxO1 expressions. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *93*, 1033–1039. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.082

Targher, G., Corey, K. E., Byrne, C. D., & Roden, M. (2021). The complex link between NAFLD and type 2 diabetes mellitus mechanisms and treatments. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 18, Issue 9, pp. 599–612). https://doi.org/10.1038/s41575-021-00448-y

Tilg, H., Moschen, A. R., & Roden, M. (2017). NAFLD and diabetes mellitus. In *Nature*

Reviews Gastroenterology and Hepatology (Vol. 14, Issue 1, pp. 32–42). https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.147

Tiwari, B. K., Pandey, K. B., Abidi, A. B., & Rizvi, S. I. (2013). Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus. *Journal of Biomarkers*, *2013*, 1–8. https://doi.org/10.1155/2013/378790

Tjandrawinata, R. R. (2016). Patogenesis diabetes tipe 2: resistensi defisiensi insulin. *Dexa Medica Gr*, 1-4.

Udogadi, N. S., Onyenibe, N. S., & Abdullahi, M. K. (2019). Dietary management of diabetes mellitus with focus on Nigeria. *International Journal of Diabetes Research*, *2*(1), 26-32.

Umami, Z., Nurdiana, & Nugroho, F. A. (2015). Efek pemberian susu sapi bubuk terhadap kadar serum HDL (High Density Lipoprotein) pada tikus putih (Rattus norvegicus) galur wistar model diabetes mellitus tipe 2. *Journal Gizi Pangan*, *10*.

Werdhasari Asri. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Biotek Medisiana Indonesia*, *3*, 59–68.

WHO. (2019). Classification of diabetes mellitus. http://apps.who.int/bookorders.

Widayat,U., & Setyahadi, S. (2022). Optimasi Dan Identifikasi Fitokimia Serta Uji Efek

Hipoglikemik Kombinasi Ekstrak Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Dan Ekstrak Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Secara In Vitro. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, *9*(1), 24. https://doi.org/10.33096/jffi.v9i1.808

Wijaya, S., Kurnia Setiawan, H., & Bella Purnama, V. (2019). Standarisasi spesifik dan non spesifik dari ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*). Journal of Pharmacey Science and Practice I. Vol 6.

Wisman, W., Siregar, C. D., & Deliana, M. (2016). Pemberian insulin pada diabetes melitus tipe-1. *Sari Pediatri,* 9(1), 48-53.

Wojnar, W., Zych, M., Borymski, S., & Kaczmarczyk-Sedlak, I. (2020). Chrysin Reduces Oxidative Stress but Does Not Affect Polyol Pathway in the Lenses of Type 1 Diabetic Rats. *Antioxidants 2020, Vol. 9, Page 160*, *9*(2), 160. https://doi.org/10.3390/ANTIOX9020160

Xu, P., Xiao, J., & Chi, S. (2021). Piperlongumine attenuates oxidative stress, inflammatory, and apoptosis through modulating the GLUT-2/4 and AKT signaling pathway in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, *35*(6), 1–12. https://doi.org/10.1002/jbt.22763

Y. Parmar, M. (2018). Obesity and Type 2 diabetes mellitus. *Integrative Obesity and Diabetes*, *4*(4). https://doi.org/10.15761/iod.1000217

Yan, L. J. (2014). Pathogenesis of chronic hyperglycemia: From reductive stress to

oxidative stress. In *Journal of Diabetes Research* (Vol. 2014). https://doi.org/10.1155/2014/137919

Younossi, Z. M., Golabi, P., de Avila, L., Paik, J. M., Srishord, M., Fukui, N., Qiu, Y., Burns, L., Afendy, A., & Nader, F. (2019). The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Hepatology*, *71*(4), 793–801. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.06.021

Zakaria, Z. A., Rahim, M. H. A., Mohtarrudin, N., Kadir, A. A., Cheema, M. S., Ahmad, Z., Mooi, C. S., & Tohid, S. F. M. (2016). Acute and sub-chronic oral toxicity studies of methanol extract of *Clinacanthus nutans* in mice. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *13*(2), 210–222. https://doi.org/10.4314/ajtcam.v13i2.25

Zuhriyah, A. A., Qomariyah, N., Purnama, R., Biologi, J., Matematika, F., Ilmu, D., Alam, P., & Surabaya, U. N. (2021). Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Mente (*Anacardium occidentale*) terhadap Kadar Hemoglobin, Morfologi, dan Morfometri Hepar Mencit Diabetes Effect of Cashew (*Anacardium occidentale*) Leaf Extract on Hemoglobin Levels, Liver Morphology and Morphometry of Diabetes Mice. *10*, 275–284. https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index

LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik

	FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG **KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN** Kampus 3 FKIK Gedung Ibnu Thufail Lantai 2 Jalan Locari, Tlekung Kota Batu E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id
	KETERANGAN KELAIKAN ETIK ***(ETHICAL CLEARANCE)*** **No. 083/EC/KEPK-FKIK/2022**

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN(KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANGTELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Clinacanthus nutans* pada Tikus Model Diabetes Mellitu
Sub Judul	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Clinacanthus nutans* pada Tikus Model Diabetes Mellitu
Peneliti	- dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed - Nur Alqurratu A'yuni Syukri - Muhamad Daffa Abhista Reviansyah - Aulia Sri Nastiti Suwondo - Rasyidu Fabian Mashuri - Mahasya Khafiralia - Firdaus Silahudin
Unit / Lembaga	Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian	Laboratorium FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Malang, 3 Maret 2022

Ketua

dr. Doby Indrawan , MMRS

NIP. 197810012017010111 3

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2. Determinasi Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*)

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id

Nomor : 074/ 042/ 102.7-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Dandang Gendis**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : dr. NURLAILI SUSANTI, M.Biomed
NIM/P : 198310242011012007
Fakultas : FKIK, UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman dandang gendis
   - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
   - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
   - Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
   - Sub Kelas : Asteridae
   - Ordo : Scrophulariales
   - Famili : Acanthaceae
   - Genus : Clinacanthus
   - Spesies : *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau
   - Nama Umum : Dandang gendis, belalai gajah, phaya yo, rumput ular sabah, ki tajam.
   - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405a-406b-409a-410b-411a:Acanthaceae-1b-36a-37a-38a:Clinacanthus-49:*C.nutans*.
2. Morfologi : Tanaman perdu tahunan, tinggi lebih kurang 2,5 meter. Batang berkayu, tegak, beruas dan berwarna hijau. Daun tunggal, berhadapan, bentuk lanset, panjang 8-12 mm, lebar 4-6 mm, bertulang menyirip, berwarna hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, di ketiak daun dan di ujung batang, mahkota bunga berbentuk tabung, panjang 2-3 cm berwarna merah muda. Buah kotak, bulat memanjang berwarna cokelat.
3. Bagian yang digunakan : Daun.
4. Penggunaan : Penelitian.
5. Daftar Pustaka

- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only), Vol I.* N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only), Vol. II.* N.V.P. Noordhoff, Groningen.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 17 Januari 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
DINAS KESEHATAN

ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 3. Karakter Hewan Coba

3.1 Data BB dan GDP 6 Tikus Kontrol Normal (K1) Sebelum (H0) dan Setelah (H-7) Injeksi Bufer Sitrat

`	Berat Badan (g)		Gula Darah Puasa (mg/dL)	
No	**H-7**	**H0**	**H-7**	**H0**
1	190	194	99	98
2	188	190	93	92
3	180	185	92	94
4	194	190	97	98
5	186	188	90	95
6	192	198	92	96
Mean±SD	**188,33**	**190,83**	**93,83**	**95,50**

3.2 Analisis Deskriptif BB 6 Tikus Kontrol Normal (K1) Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat untuk Melihat Nilai *Mean* dan *Standart Deviasi* (SD)

Descriptives

			Statistic	Std. Error
BB_H7	Mean		188.33	2.028
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	183.12	
		Upper Bound	193.55	
	5% Trimmed Mean		188.48	
	Median		189.00	
	Variance		24.667	
	Std. Deviation		4.967	
	Minimum		180	
	Maximum		194	
	Range		14	
	Interquartile Range		8	
	Skewness		-.871	.845
	Kurtosis		.735	1.741
BB_H0	Mean		190.83	1.869
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	186.03	
		Upper Bound	195.64	
	5% Trimmed Mean		190.76	
	Median		190.00	
	Variance		20.967	
	Std. Deviation		4.579	
	Minimum		185	
	Maximum		198	
	Range		13	
	Interquartile Range		8	
	Skewness		.554	.845
	Kurtosis		.059	1.741

3.3 Uji Normalitas dengan *Saphiro Wilk* dari BB 6 Tikus Kontrol Normal (K1) Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB_H7	.153	6	.200*	.957	6	.794
BB_H0	.239	6	.200*	.962	6	.836

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

a. Lilliefors Significance Correction

3.4 Uji Paired T-Test dari BB 6 Tikus Kontrol Normal (K1) Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	BB_H7 - BB_H0	-2.500	3.564	1.455	-6.240	1.240	-1.718	5	.146

3.5 Analisis Deskriptif GDP 6 Tikus Kontrol Normal (K1) Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat untuk Melihat Nilai *Mean* dan *Standart Deviasi* (SD)

Descriptives

			Statistic	Std. Error
GDP_H7	Mean		93.83	1.400
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	90.23	
		Upper Bound	97.43	
	5% Trimmed Mean		93.76	
	Median		92.50	
	Variance		11.767	
	Std. Deviation		3.430	
	Minimum		90	
	Maximum		99	
	Range		9	
	Interquartile Range		6	
	Skewness		.747	.845
	Kurtosis		-.931	1.741
GDP_H0	Mean		95.50	.957
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	93.04	
		Upper Bound	97.96	
	5% Trimmed Mean		95.56	
	Median		95.50	
	Variance		5.500	
	Std. Deviation		2.345	
	Minimum		92	
	Maximum		98	
	Range		6	
	Interquartile Range		5	
	Skewness		-.349	.845
	Kurtosis		-.850	1.741

3.6 Uji Normalitas dengan *Saphiro Wilk* dari GDP 6 Tikus Kontrol Normal (K1) Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDP_H7	.263	6	.200*	.900	6	.377
GDP_H0	.190	6	.200*	.934	6	.614

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

a. Lilliefors Significance Correction

3.7 Uji Paired T-Test dari GDP 6 Tikus Kontrol Normal (K1) Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair 1	GDP_H7 - GDP_H0	-1.667	2.503	1.022	-4.294	.960	-1.631	5	.164

3.8 Data BB dan GDP 24 Tikus Kontrol Diabetes Melitus Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi STZ

		Berat Badan (g)		Gula Darah Puasa (mg/dL)	
KP	**No**	**s-DM**	**DM**	**s-DM**	**DM**
K2	1	208	194	97	445
	2	173	188	83	516
	3	180	170	102	517
	4	182	180	107	536
	6	166	160	133	396
	7	185	183	102	490
P1	1	239	214	69	337
	2	220	196	87	485
	3	173	164	85	546
	6	176	207	80	526
	7	240	243	65	247
	8	166	157	65	540
P2	1	233	188	80	337
	2	225	197	84	442
	3	213	198	72	463
	6	214	201	70	581
	7	189	191	115	292
	8	224	203	75	497
P3	1	202	179	82	439
	5	212	200	67	423
	5	169	166	86	442
	6	238	236	86	366
	7	196	187	85	554
	8	216	198	71	493
Mean±SD		201,63±25,04	191,67±21,13	85,33±16,87	454,58±87,61

3.9 Analisis Deskriptif BB 24 Tikus Kontrol Diabetes Melitus Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat untuk Melihat Nilai *Mean* dan *Standart Deviasi* (SD)

Descriptives

			Statistic	Std. Error
BB_H7	Mean		201.63	5.111
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	191.05	
		Upper Bound	212.20	
	5% Trimmed Mean		201.48	
	Median		205.00	
	Variance		626.853	
	Std. Deviation		25.037	
	Minimum		166	
	Maximum		240	
	Range		74	
	Interquartile Range		46	
	Skewness		.037	.472
	Kurtosis		-1.395	.918
BB_H0	Mean		191.67	4.314
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	182.74	
		Upper Bound	200.59	
	5% Trimmed Mean		190.78	
	Median		192.50	
	Variance		446.580	
	Std. Deviation		21.132	
	Minimum		157	
	Maximum		243	
	Range		86	
	Interquartile Range		22	
	Skewness		.576	.472
	Kurtosis		.779	.918

3.10 Uji Normalitas dengan *Saphiro Wilk* dari BB 24 Tikus Kontrol Diabetes Melitus Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi STZ

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB_H7	.122	24	.200*	.926	24	.078
BB_H0	.129	24	.200*	.948	24	.250

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

a. Lilliefors Significance Correction

3.11 Uji Paired T-Test dari BB 24 Tikus Kontrol Diabetes Melitus Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi STZ

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	BB_H7 - BB_H0	9.958	15.118	3.086	3.574	16.342	3.227	23	.004

3.12 Analisis Deskriptif GDP 24 Tikus Kontrol Diabetes Melitus Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi Bufer Sitrat untuk Melihat Nilai *Mean* dan *Standart Deviasi* (SD)

Descriptives

			Statistic	Std. Error
GDP_H7	Mean		85.33	3.444
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	78.21	
		Upper Bound	92.46	
	5% Trimmed Mean		83.98	
	Median		83.50	
	Variance		284.667	
	Std. Deviation		16.872	
	Minimum		65	
	Maximum		133	
	Range		68	
	Interquartile Range		23	
	Skewness		1.163	.472
	Kurtosis		1.442	.918
GDP_H0	Mean		454.58	17.884
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	417.59	
		Upper Bound	491.58	
	5% Trimmed Mean		458.93	
	Median		474.00	
	Variance		7675.819	
	Std. Deviation		87.612	
	Minimum		247	
	Maximum		581	
	Range		334	
	Interquartile Range		121	
	Skewness		-.808	.472
	Kurtosis		.011	.918

3.13 Uji Normalitas dengan *Saphiro Wilk* dari GDP 24 Tikus Kontrol Diabetes Melitus Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi STZ

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDP_H7	.211	24	.007	.902	24	.024
GDP_H0	.138	24	.200*	.937	24	.137

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

a. Lilliefors Significance Correction

3.14 Uji Perbedaan dengan *wilcoxon* dari GDP 24 Tikus Kontrol Diabetes Melitus Sebelum (H-7) dan Setelah (H0) Injeksi STZ

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
GDP_H0 - GDP_H7	Negative Ranks	0[a]	.00	.00
	Positive Ranks	24[b]	12.50	300.00
	Ties	0[c]		
	Total	24		

a. GDP_H0 < GDP_H7

b. GDP_H0 > GDP_H7

c. GDP_H0 = GDP_H7

Test Statistics[a]

	GDP_H0 - GDP_H7
Z	-4.286[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on negative ranks.

Lampiran 4. Pengukuran Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus

4.1 Perhitungan Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus

Sampel : Organ Hepar

No	Kode	OD	Rasio Inhibisi	SOD (U)	Kadar Protein (mg)	Kadar SOD (U/mgprot)
1	K1.1	0.211	58,79	5.878,91	4,15	1416,60
2	K1.2	0.282	44,92	4.492,19	3,14	1430,63
3	K1.3	0.212	58,59	5.859,38	4,05	1446,76
4	K1.4	0.241	52,93	5.292,97	3,85	1374,80
5	K1.5	0.184	64,06	6.406,25	4,62	1386,63
6	K1.6	0.235	54,10	5.410,16	3,85	1405,24
7	K2.1	0.122	52,53	5.252,92	10,22	513,98
8	K2.2	0.142	44,75	4.474,71	9,87	453,36
9	K2.3	0.123	52,14	5.214,01	9,74	535,32
10	K2.4	0.142	44,75	4.474,71	9,94	450,17
11	K2.6	0.181	29,57	2.957,20	10,03	294,84
12	K2.7	0.170	33,85	3.385,21	10,21	331,56
13	P1.1	0.204	20,62	2.062,26	8,05	256,18
14	P1.2	0.144	43,97	4.396,89	8,12	541,49
15	P1.3	0.139	45,91	4.591,44	7,85	584,90
16	P1..4	0.128	50,19	5.019,46	7,95	631,38
17	P1.5	0.074	71,21	7.120,62	7,89	902,49
18	P1.6	0.081	68,48	6.848,25	7,94	862,50
19	P2. 1	0.131	49,03	4.902,72	6,25	784,44
20	P2.2	0.157	38,91	3.891,05	6,53	595,87
21	P2.3	0.193	24,90	2.490,27	5,97	417,13
22	P2.6	0.154	40,08	4.007,78	6,11	655,94
23	P2.7	0.107	58,37	5.836,58	6,27	930,87
24	P2.8	0.092	64,20	6.420,23	6,32	1.015,86

25	P3.1	0.175	31,91	3.190,66	4,67	683,23
26	P3.3	0.128	50,19	5.019,46	4,82	1.041,38
27	P3.5	0.170	33,85	3.385,21	4,39	771,12
28	P3.6	0.125	51,36	5.136,19	4,89	1.050,34
29	P3.7	0.111	56,81	5.680,93	5,12	1.109,56
30	P3.8	0.105	59,14	5.914,40	5,07	1.166,55

4.2 Analisis Deskriptif Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus untuk Melihat Nilai *Mean* dan *Standart Deviasi* (SD)

Descriptives

	Kelompok			Statistic	Std. Error
Kadar_SOD_Hepar	K1	Mean		1410.1100	10.99733
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1381.8405	
			Upper Bound	1438.3795	
		5% Trimmed Mean		1410.0356	
		Median		1410.9200	
		Variance		725.647	
		Std. Deviation		26.93784	
		Minimum		1374.80	
		Maximum		1446.76	
		Range		71.96	
		Interquartile Range		50.99	
		Skewness		.016	.845
		Kurtosis		-1.142	1.741
	K2	Mean		429.8717	39.60472
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	328.0645	
			Upper Bound	531.6788	
		5% Trimmed Mean		431.5152	
		Median		451.7650	
		Variance		9411.204	
		Std. Deviation		97.01136	
		Minimum		294.84	
		Maximum		535.32	
		Range		240.48	
		Interquartile Range		196.94	
		Skewness		-.533	.845
		Kurtosis		-1.508	1.741
	P1	Mean		629.8233	96.24936
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	382.4065	
			Upper Bound	877.2402	
		5% Trimmed Mean		635.4331	
		Median		608.1400	
		Variance		55583.638	
		Std. Deviation		235.76182	
		Minimum		256.18	
		Maximum		902.49	
		Range		646.31	
		Interquartile Range		402.33	
		Skewness		-.460	.845
		Kurtosis		.097	1.741
	P2	Mean		733.3517	90.61354
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	500.4222	
			Upper Bound	966.2812	
		5% Trimmed Mean		735.2246	
		Median		720.1900	
		Variance		49264.877	
		Std. Deviation		221.95693	
		Minimum		417.13	
		Maximum		1015.86	
		Range		598.73	
		Interquartile Range		400.93	
		Skewness		-.118	.845
		Kurtosis		-.975	1.741
	P3	Mean		970.3633	79.88492
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	765.0126	
			Upper Bound	1175.7141	
		5% Trimmed Mean		975.4159	
		Median		1045.8600	
		Variance		38289.602	
		Std. Deviation		195.67729	
		Minimum		683.23	
		Maximum		1166.55	
		Range		483.32	
		Interquartile Range		374.66	
		Skewness		-.819	.845
		Kurtosis		-1.334	1.741

4.3 Uji Normalitas dengan *Saphiro Wilk* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov[a] Statistic	df	Sig.	Shapiro-Wilk Statistic	df	Sig.
Kadar_SOD_Hepar	K1	.142	6	.200*	.980	6	.950
	K2	.250	6	.200*	.903	6	.391
	P1	.187	6	.200*	.935	6	.620
	P2	.147	6	.200*	.976	6	.931
	P3	.308	6	.077	.863	6	.201

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

a. Lilliefors Significance Correction

4.4 Uji Homogenitas dengan Uji *Levene* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar_SOD_Hepar	Based on Mean	3.380	4	25	.024
	Based on Median	2.255	4	25	.092
	Based on Median and with adjusted df	2.255	4	16.000	.109
	Based on trimmed mean	3.365	4	25	.025

4.5 Uji *Kruskal Wallis* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Kadar_SOD_Hepar	K1	6	27.50
	K2	6	5.17
	P1	6	11.17
	P2	6	13.83
	P3	6	19.83
	Total	30	

Test Statistics[a,b]

	Kadar_SOD_Hepar
Kruskal-Wallis H	22.538
df	4
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

4.6 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus K1-K2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	K1	6	9.50	57.00
	K2	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.7 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus K1-P1

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	K1	6	9.50	57.00
	P1	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.8 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus K1-P2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	K1	6	9.50	57.00
	P2	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.9 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus K1-P3

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	K1	6	9.50	57.00
	P3	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.10 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus K2-P1

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	K2	6	4.50	27.00
	P1	6	8.50	51.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-1.922
Asymp. Sig. (2-tailed)	.055
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.11 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus K2-P2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	K2	6	4.17	25.00
	P2	6	8.83	53.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-2.242
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.026[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.12 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus K2-P3

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	K2	6	3.50	21.00
	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.13 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus P1-P2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	P1	6	5.50	33.00
	P2	6	7.50	45.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	33.000
Z	-.961
Asymp. Sig. (2-tailed)	.337
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.394[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.14 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus P1-P3

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	P1	6	4.17	25.00
	P3	6	8.83	53.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-2.242
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.026[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.15 Uji *Mann-Whitney U* dari Data Kadar SOD Total Hepar dari 30 Ekor Tikus P2-P3

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_SOD_Hepar	P2	6	4.50	27.00
	P3	6	8.50	51.00
	Total	12		

Test Statistics[a]

	Kadar_SOD_Hepar
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-1.922
Asymp. Sig. (2-tailed)	.055
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Lampiran 5. Dokumentasi dari Penelitian yang Telah Dilakukan

Penyiapan kandang tikus

Penyiapan pakan tikus

Penyiapan minuman tikus

Penimbangan berat badan tikus

Kondisi kandang tikus

Ekstrak etanol daun *Clinacanthus nutans*

Streptozotocin *ChemCruz* (U-9889) 1 gram

Penimbangan STZ

Pembuatan larutan natrium sitrat dan asam sitrat untuk buffer sitrat

Larutan buffer sitrat

Larutan STZ yang sudah dilarutkan dengan buffer

STZ diinjeksikan secara intraperitoneal pada tikus sitrat diaspirasi