

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lamk.) TERHADAP KADAR ENZIM
SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS WISTAR
JANTAN (*Rattus norvegicus* L.) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:

Mutholiatul Masyrifah

NIM. 13670037



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lamk.) TERHADAP KADAR ENZIM
SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS WISTAR
JANTAN (*Rattus norvegicus* L.) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

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

Oleh:
Mutholiatul Masyrifah
NIM. 13670037

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lamk.) TERHADAP KADAR ENZIM
SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus
norvegicus* L.) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh :

Mutholiatul Masyrifah

NIM. 13670037

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal:**

Pembimbing I

Siti Maimunah, M.Farm., Apt.
NIDT. 19870408 20160801 2 084

Pembimbing II

Dewi Sinta Megawati, M.Sc
NIDT. 19840116 20170101 2 125

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 001

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lamk.) TERHADAP KADAR ENZIM
SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus
norvegicus* L.) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh :

Mutholiatul Masyrifah

NIM. 13670037

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

Tanggal:

**Ketua Penguji : Dr. Erna Susanti, M.Biomed., Apt (.....)
NIDN. 0713087402**

**Anggota Penguji 1. Weka Sidha. B, M.Farm., Apt (.....)
NIDT. 19881124 20160801 1 085**

**2. Dewi Sinta Megawati, M.Sc (.....)
NIDT. 19840116 20170101 2 125**

**3. Siti Maimunah, M.Farm., Apt (.....)
NIDT. 19870408 20160801 2 084**

Mengesahkan,

Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Rohatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mutholiatul Masyrifah

NIM : 13670037

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Terhadap Kadar Enzim Superoksida Dismutase Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus* L.) Diabetes Mellitus

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

Malang, 16 April 2016

Yang membuat pernyataan,



Mutholiatul Masyrifah

NIM. 13670037



خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

“The best of people are those that bring most benefit to the rest of mankind”

(HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-

Daruqutni in *Shahihul Jami’* al-Albani

no:3289).

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin

Karya sederhana ini kupersembahkan untuk :

Teristimewa Ayahanda dan Ibunda tercinta, Bapak Mustajib dan Ibu Amaliyah juga Bapak Misenam dan Ibu Mulyati, terima kasih tiada tara dan tiada terhingga karena doa merekalah Rifa dapat menyelesaikan pendidikan jenjang S1 ini dengan tanpa kendala yang berarti. Terimakasih atas semua dukungan, doa dan kepercayaan yang diberikan kepada Rifa. Teruntuk adek ku Muhsinul Faizin terimakasih atas setiap doa yang teruntai dalam setiap sholat dan semangat yang tiada hentinya untuk mbak.

Untuk yang kuhormati para dosenku dan almamaterku, untuk dedikasinya bagi kampus dan dunia pendidikan. Terimakasih khususnya kepada dosen pembimbing dan penguji Bapak Abdul Wafi M.Si., Ibu Dr. Erna Susanti M.Biomed, Apt., Ibu Siti Maimunah M.Farm, Apt., Ibu Dewi Sinta Megawati M.Sc, dan Bapak Weka Sidha Bhagawan M.Farm, Apt., berkat bimbingan dari Beliau semua, semoga ilmu yang telah diberikan mendapat barokah dari Allah SWT.

Tak lupa juga terimakasih untuk sahabatku Diana Khalida dan Anggun Anjaswara yang telah berjuang bersama dan mewarnai hidupku selama 4 tahun di jurusan Farmasi dan banyak membantu saya pada jalannya penelitian dan pengerjaan skripsi. Terimakasih pada sahabatku Rif'an Kholili dan Dana Anggawina yang selalu menghibur dan menemani disaat penat. Terimakasih pada sahabatku Ayu Lestari dan Usrotun Diniyah yang selalu mendukung dan memberikan kekuatan dibanyak waktu. Terimakasih sebesar-besarnya karena bantuan dan dorongan yang mereka berikan tak ternilai harganya.

Yang terakhir untuk yang tersolid dan yang terhebat teman-teman keluarga besar GOLFY Farmasi UIN Malang 2013 yang tak bisa saya sebutkan satu persatu, atas tahun-tahun terbaik, diskusi bermakna, semua dukungan, doa dan semangat yang tiada henti. Terimakasih banyak dan sukses untuk kalian semua.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Terhadap Kadar Enzim Superoksida Dismutase Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus* L.) Diabetes Mellitus”. Shalawat serta salam senantiasa turunkan kepada baginda Rasul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes. Apt, selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Abdul Wafi, M.Si. dan Siti Maimunah M.Farm. Apt, selaku dosen pembimbing skripsi Jurusan Farmasi yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan.

5. Dewi Sinta Megawati M.Sc., selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang telah memberikan arahan serta pandangan sains dari prespektif Islam.
6. Dr. Erna Susanti M.Biomed. Apt dan Weka Sidha Bhagawan M.Farm. Apt, sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
7. Segenap civitas akademika Jurusan Farmasi, terutama seluruh Bapak/Ibu dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
8. Ayah dan Ibu serta keluarga besar yang menjadi penyemangat serta motivasi kepada penulis sampai saat ini.
9. Seluruh teman-teman Farmasi angkatan 2013, yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.
10. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materiil.

Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Aamiin Ya Rabbal Alamiin.*

Waasalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 24 Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRAC	xvi
مختلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.5 Batasan Masalah	10
BAB II STUDI PUSTAKA	11
2.1 Diabetes Mellitus	11
2.2 Glukosa Darah	15
2.3 Radikal Bebas	17
2.4 Hubungan Antara Diabetes Mellitus Dengan Radikal Bebas	24
2.5 Antioksidan	27
2.6 <i>Streptozotocin</i>	35
2.7 Tikus	37
2.8 Buah Merah	40
2.9 Ekstraksi	46
2.10 Spektrofotometri	47
2.11 Analisis Varian	51
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	54
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	54
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	55
3.3 Hipotesis	57
BAB IV METODE PENELITIAN	58
4.1 Jenis Dan Rancangan Penelitian	58
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	58
4.3 Populasi dan Sampel	58
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	60
4.5 Bahan dan Alat Penelitian	62

4.6	Prosedur Penelitian	63
4.6.1	Pembuatan Hewan Model DM	63
4.6.2	Pemberian Terapi Ekstrak Etanol Buah Merah	65
4.6.3	Tahap Pengambilan Data	66
4.6.4	Analisis Data	69
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....		70
5.1	Persiapan Sampel	70
5.2	Peningkatan Kadar Enzim SOD Tikus DM Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah	73
5.3	Pengaruh Variasi Dosis Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah Terhadap Kadar Enzim SOD Tikus DM	78
BAB VI PENUTUP		85
6.1	Kesimpulan	85
6.2	Saran	85
DAFTAR PUSTAKA		86
LAMPIRAN		96



DAFTAR TABEL

Tabel 2.3. Jenis ROS dan aktivitasnya.....	19
Tabel 2.8.4. Kandungan kimia buah merah	45
Tabel 5.2. Hasil Rata-rata Kadar SOD Serum Darah Tikus	75
Tabel 5.3. Hasil Persentase kenaikan Kadar SOD Serum Darah Tikus.....	81



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.4.1. Jalur metabolisme glukosa yang dapat menghasilkan ROS.	26
Gambar 2.4.2 Peningkatan kadar glukosa darah.....	27
Gambar 2.6.1 <i>Streptozotocin</i>	35
Gambar 2.6.2 Mekanisme Efek STZ pada Sel Beta Pankreas	36
Gambar 2.7 Tikus <i>rattus norvogenicus</i> galur wistar	38
Gambar 2.8.1 Buah Merah	41
Gambar 2.8.2 <i>Pandanus conoideus</i> Lamk	43
Gambar 5.2 Kurva Standar Superoksida Dismutase	74
Gambar 5.2.2 Diagram nilai rata-rata kadar SOD pada serum darah tikus DM setelah pemberian terapi ekstrak etanol buah merah	76
. Gambar 5.3 Kurva nilai selisih rata-rata kadar SOD pada serum darah tikus DM setelah pemberian terapi ekstrak etanol buah merah dibandingkan dengan kontrol positif.....	81

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Determinasi	96
Lampiran 2. Prosedur Ekstraksi Buah Merah	97
Lampiran 3. Diagram Alur Penelitian	98
Lampiran 4. Keterangan Kelaiakan Etik	99
Lampiran 5. Pembuatan Larutan STZ	100
Lampiran 6. Dosis Ekstrak Etanol Buah Merah	101
Lampiran 7. Data Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dL) Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Sebelum (Post STZ) dan Sesudah Perlakuan Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk.)	103
Lampiran 8. Pembuatan Larutan SOD	104
Lampiran 9. Prosedur Pengukuran Kadar SOD	106
Lampiran 10. Hasil Kadar SOD Serum Darah Tikus	107
Lampiran 11. Perhitungan Kadar Enzim Superoksida Dismutase	108
Lampiran 12. Hasil Perhitungan Statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) SPSS 16	110
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian	117

ABSTRAK

Masyrifah, Mutholiatul. 2017. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Terhadap Kadar Enzim Superoksida Dismutase Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus* L.) Diabetes Mellitus**. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Kata Kunci: Ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.), Streptozotisin, SOD, Diabetes Mellitus.

Buah merah merupakan tanaman endemik daerah Papua yang memiliki banyak manfaat, satu diantaranya yaitu sebagai obat antidiabetik. Buah merah diketahui banyak mengandung antioksidan dari golongan flavon. Senyawa dari golongan flavon diduga dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif pada diabetes mellitus ditandai dengan peningkatan SOD. Diharapkan ekstrak etanol buah merah menghasilkan dosis dengan efek yang menguntungkan bagi kondisi diabetes mellitus.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan dengan 30 ekor tikus wistar jantan diinduksi Streptozotisin dosis 80 mg/kgBB. Perlakuan digunakan ekstrak etanol buah merah dengan P1 (DM + ekstrak etanol buah merah 250 mg/kgBB), P2 (DM + ekstrak etanol buah merah 500 mg/kgBB), P3 (DM + ekstrak etanol buah merah 1000 mg/kgBB), P4 (DM + ekstrak etanol buah merah 2000 mg/kgBB), K- (kontrol negatif, normal) dan K+ (kontrol positif, DM). Hewan yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 g. Parameter dalam penelitian ini meliputi kadar SOD serum darah tikus. Data yang memenuhi asumsi parametrik dianalisis dengan *Anova One Way* dan jika terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan uji LSD.

Berdasarkan hasil analisis *Anova* menunjukkan ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) berpengaruh nyata terhadap kadar SOD. Hasil penelitian menunjukkan telah terjadi proses perbaikan stres oksidatif pada tikus DM akibat pemberian ekstrak etanol buah merah dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menaikkan kadar SOD di serum darah tikus yang diinduksi STZ dosis tunggal. Dosis yang menunjukkan kadar SOD tertinggi yaitu dosis 2000 mg/kgBB.

ABSTRAC

Masyrifah, Mutholiatul. 2017. **The Effect of Red Fruit Ethanol Extract (*Pandanus conoideus* Lamk.) On Superoxide Dismutase Enzyme on Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus* L.) Diabetes Mellitus**. Theses. Department of Pharmacy Faculty of Medicine and Health Sciences Islamic State University Maulana Malik Ibrahim Malang.

Keywords: Red fruit ethanol extract (*Pandanus conoideus* Lamk.), Streptozotocyn, SOD, Diabetes Mellitus.

Red fruit is an endemic plant of Papua region that has many benefits, one of which is as an antidiabetic drug. Red fruit is known to contain many antioxidants from flavones. Compounds of the flavon group are thought to improve the oxidative stress condition in diabetes mellitus characterized by increased SOD. It is expected that the red fruit ethanol extract yields doses with beneficial effects for the condition of diabetes mellitus.

This study was an experimental study using a complete randomized design (RAL) with 6 treatments and 4 replicates with 30 male wistar rats induced Streptozotocyn dose 80 mg/KgW. Treatment was used extract of red fruit ethanol with P1 (DM + extract ethanol red fruit 250 mg/KgW), P2 (DM + extract ethanol red fruit 500 mg/KgW), P3 (DM + extract ethanol red fruit 1000 mg/ KgW), P4 (DM + red fruit ethanol extract 2000 mg/ KgW), K- (negative control, normal) and K+ (positive control, DM). Animals used were male 3-4 month wistar rats weighing 150-200 g. The parameters in this study included SOD blood serum blood levels. Data that meets the parametric assumptions are analyzed by Anova One Way and if there is an effect then proceed with LSD test.

Based on the results of Anova analysis showed that red fruit ethanol extract (*Pandanus conoideus* Lamk.) Had significant effect on SOD content. The results showed that oxidative stress in DM mice was increased due to the administration of red fruit ethanol extract at 250 mg/ KgW, 500 mg/ KgW, 1000 mg/ KgW, and 2000 mg/ KgW to reduce blood glucose levels and increase SOD levels Blood serum of mice induced single-dose STZ. The highest dose of SOD was dose of 2000 mg/ KgW.

مختصر البحث

مشرفة، مطالعة. 2017. تأثير الايثانول مستخلص من الفاكهة الحمراء (*Pandanus conoideus* Lamk.) على مستويات الانزيمات ديسموتان الفائق على الفئران الذكورالويستار (*Rattus norvegicus* L.) للمرض السكري. اطروحة. قسم الصيدلة بكلية الطب والعلوم الصحة بجامعة الاسلامية الحكومية مولانا مالك ابراهيم مالانج

كلمات البحث: الايثانول المستخلص من الفاكهة الحمراء، للمرض السكري، Streptozotosin، SOD

الفاكهة الحمراء هي النباتات المستوطنة من بابوا التي لديها الكثير من الفوائد، واحد مثل الادوية المضادة لمرض السكري، الفاكهة الحمراء معروفة تحتوي على الكثير من المواد المضادة للاكسدة من مجموعة فلافونويد مستخلص من مجموعة فلافونويد يُزعم تحسين حالة من التوتر، الاكسدة في مرض السكري يتسم بزيادة SOD ويُرجح مقتطف الايثانول من الفاكهة الحمراء تنتج الجرعة مع الاثار المفيدة عن حالة مرض السكري .

هدا البحث هو البحث التجريبي الذي يستخدم تصمم كامل العشوائية (RAL) مع 6 معاملة 4 مكررات و مع 30 الفئران الذكور ويستار، الناجم Streptozotosin جرعة 80 ملغ\كغ، العلاج مستعمل في استخراج الايثانول من الفاكهة الحمراء مع P1 (250 EEBM + DM) ملغ\كغ، P2 (EEBM + DM) 500 ملغ\كغ، P3 (1000 EEBM + DM) ملغ\كغ، P4 (2000 EEBM + DM) ملغ\كغ، ك- (السلبية تحكم، طبيعة)، و ك+ (مراقبة ايجابية، DM) الحيوانات المستخدمة في الذكور الفئران ويستار الذين تتراوح اعمارهم بين 3-4 اشهر بوزن الجسم من 150-200 غرام، المعلمات في هذه الدراسة مستويات SOD في مصل الدم من الفئران البيئات تلبية افتراضات حدودي التحليل مع Anova طريقة واحدة واذا كان هناك تأثير ثم تابع مع الاختبار LSD.

اسناد الى نتائج تحليل Anova يدل استخراج الايثانول من الفاكهة الحمراء تأثير الكبير على مستويات SOD وظهرت النتائج حدث اصلاح عملية الاكسدة في الفئران مع DM بسبب الادارة من استخراج الايثانول من الفاكهة الحمراء. ويمكن ان تخفض مستويات السكري الدم ورفع مستويات SOD في مصل الدم من الفئران تسببها STZ جرعة واحدة، الجرعة التي اظهرت مستويات SOD هو اعلى جرعة من 2000 ملغ\كغ.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu penyakit yang tingkat prevalensinya semakin meningkat di beberapa negara berkembang dan banyak mendapatkan sorotan masyarakat pada saat ini adalah diabetes mellitus. Data terbaru menunjukkan bahwa penderita diabetes mellitus di seluruh dunia pada tahun 2015 mencapai 4,72 miliar dan pada 2040 diprediksi meningkat sampai 6,16 miliar (IDF, 2015). Data terakhir menunjukkan angka kematian akibat penyakit DM telah mencapai 5 juta orang pada tahun 2015 (IDF, 2015). Prevalensi diabetes mellitus di Indonesia menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 secara nasional adalah sebesar 6,9% meningkat dari tahun 2007 yang hanya sebesar 5.8% yaitu sebanyak 8.554.155 orang. Bahkan menurut ketua perkumpulan Endrokinologi Indonesia Prof. Dr. Achmad Rudijanto (2015), angka tersebut semakin naik pada tahun 2014 mencapai 9,1 juta orang dan diperkirakan meningkat dua kali lipat pada tahun 2030 (Felicia, 2012). Tingginya prevalensi diabetes mellitus di Indonesia mendorong untuk dilakukannya usaha-usaha penelitian untuk mengembangkan terapi yang sudah ada ataupun menemukan agen terapi baru yang lebih unggul baik dari segi efektivitas, maupun dari segi ekonomi serta keamanan.

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu penyakit gangguan metabolisme karbohidrat yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (Hiperglikemia) yang disebabkan oleh resistensi insulin dan kekurangan insulin yang dihasilkan sel beta pankreas sehingga menimbulkan kelainan metabolisme

karbohidrat, protein, dan lemak, serta cenderung menimbulkan berbagai komplikasi. Hiperglikemia kronis pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan berbagai macam organ, terutama hati, ginjal, mata, persarafan, jantung, dan pembuluh darah (Perkeni, 2011).

Hiperglikemia dapat menyebabkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas yang berlebihan dan akan memicu terjadinya stress oksidatif, yaitu suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas yang diproduksi melebihi kapasitas tubuh untuk menangkalnya. Radikal bebas yang berlebihan dapat merusak makromolekul yang selanjutnya dapat mengakibatkan kematian pada sel beta pankreas (Tsalisavrina, 2006; Halliwell and Gutteridge, 1999).

Kondisi stress oksidatif yang disebabkan radikal bebas memerlukan ketersediaan antioksidan dalam jumlah yang cukup, sehingga dapat mengurangi kerusakan akibat radikal bebas (Wiyono, 2003). Antioksidan dapat membantu tubuh mengatasi radikal bebas yang terjadi dengan cara menetralkan radikal bebas sehingga radikal bebas kehilangan reaktivitasnya (Winarsi, 2007). Secara normal, tubuh mempunyai strategi yang sistematis untuk memerangi pembentukan radikal bebas yaitu dengan meningkatkan enzim superoksida dismutase (SOD) (Fridovich, 1975).

Superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu antioksidan endogen yang amat berperan dalam mengkatalisasi radikal bebas anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga dapat meredakan stres oksidatif dan dapat melindungi sel-sel beta pancreas yang rusak dikarenakan kondisi DM (Mates *et al.*, 1999; Arkhesi, 2008). Sehingga salah satu indikasi berhasilnya terapi

pengobatan penyakit diabetes mellitus adalah peningkatan kadar enzim superoksida dismutase (Suarsana, 2011).

Selama ini pengobatan diabetes mellitus biasanya dilakukan dengan pemberian suntikan insulin atau dengan obat oral antidiabetik (OAD) seperti agen *sulfonylurea*, *biguanides* (metformin), *thiazolidinedione* (TZD), inhibitor α -glukosidase, dan *glucagon-like peptide-1 (GLP-1) inhibitor*. Obat-obat sintesis yang banyak digunakan saat ini membutuhkan terapi jangka panjang. WHO merekomendasikan penggunaan obat herbal dalam pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama penyakit kronis. Saat ini terapi menggunakan ramuan herbal berbagai tanaman berkhasiat obat sedang populer dikalangan masyarakat karena dinilai sebagai pengobatan yang murah dan mudah didapat (Widowati, 1997).

Sebagaimana yang telah diketahui bahwa semua penyakit pada dasarnya berasal dari Allah SWT, maka yang dapat menyembuhkan juga Allah semata. Akan tetapi untuk memperoleh kesembuhan tersebut tentunya dengan usaha yang optimal. Sesungguhnya ketika Allah mendatangkan penyakit, maka bersamaan dengan itu Allah juga mendatangkan obat. Sesuai dengan Sabda Rasulullah SAW:

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ : مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: *Diriwayatkan dari Hurairah r.a bahwa Nabi SAW Pernah bersabda “ Allah tidaklah menurunkan suatu penyakit melainkan dia juga menurunkan obatnya (penawarnya)” (HR Al-Bukhari).*

Berdasarkan hadits tersebut dapat diketahui bahwa Allah SWT tidak akan menurunkan penyakit kecuali Allah juga menurunkan obatnya, baik itu penyakit yang muncul pada zaman Nabi maupun sesudah Nabi (Hawari, 2008). Beberapa

alternatif pengobatan dapat diperoleh dari alam, yaitu berupa tumbuh-tumbuhan yang banyak mengandung manfaat. Sebagian besar tanaman mengandung ratusan jenis senyawa kimia, baik yang telah diketahui jenis dan khasiatnya ataupun yang belum diketahui jenis dan khasiatnya. Senyawa kimia merupakan salah satu bahan dasar dalam pembuatan obat dari berbagai hasil pengkajian menunjukkan bahwa tanaman daerah tropis mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan sebagai obat (Al-Qarni, 2008).

Indonesia adalah negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Kekayaan alam yang melimpah ini merupakan suatu berkah dari Allah SWT, yang sangat besar potensinya untuk dikembangkan dalam bidang ekonomi, kesehatan, maupun dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Seperti contoh kajian surah Al-Quran di bawah ini:

يُنْبِثُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِن
كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya : “Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.” (QS. An-Nahl: 11)

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan tumbuh-tumbuhan dan tanam-tanaman yang indah dari warna maupun khasiat, rasa dan baunya, ada yang manis, masam, pedas, pahit, dan sebagainya. Diantaranya ada yang menjadi makanan manusia dan ada pula yang dapat menjadi obat dan sebagainya. Semuanya itu tidak dapat diketahui kecuali oleh orang-orang yang

berilmu, dan semua itu adalah berkat kebesaran dan kekuasaan Allah (Shihab, 2002). Berdasarkan ayat di atas Allah SWT menciptakan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan dan berbagai manfaat di dalamnya. Salah satu contoh tanaman yang memiliki banyak manfaat adalah Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.).

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.), yaitu buah tanaman sejenis pandan yang tumbuh di daerah Papua dan termasuk tanaman endemik dan merupakan tanaman kearifan lokal negara Indonesia. Secara umum habitat asal tanaman ini adalah hutan sekunder dengan kondisi tanah lembab. Sejak zaman nenek moyang buah merah sudah dimanfaatkan oleh masyarakat Papua, terutama yang tinggal di pedalaman. Sampai saat ini buah merah masih digunakan dalam empat hal pokok, yaitu sebagai bahan pangan, bahan pewarna alami, bahan kerajinan, dan sebagai bahan obat untuk berbagai penyakit seperti kanker, tumor, jantung, diabetes, kolesterol, hipertensi, dan stroke (Budi, 2005).

Kandungan bahan aktif yang ada di dalam buah merah dan manfaatnya pertama kali ditemukan oleh Budi melalui penelitian yang dilakukan sejak tahun 2001. Penelitian berawal dari kecurigaannya terhadap kondisi fisik, kesehatan, dan keuletan yang diperlihatkan oleh masyarakat Jayawijaya. Dari hasil penelitiannya tersebut terbukti bahwa buah merah banyak mengandung zat-zat alami yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan proses metabolisme. Kandungan tersebut antara lain karotenoid, betakaroten, alfa tokoferol, asam oleat, asam linoleat, dekanolat, serta omega-3 dan omega-9 yang berperan sebagai senyawa anti radikal bebas pengendali beragam penyakit seperti kanker, diabetes, hipertensi, paru-paru, dan infeksi (Budi, 2005).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Elin Yulinah (2005) tentang efek antidiabetes pada buah merah, pengujian pada 30 mencit yang diberi 20 mg aloksan untuk mengontrol kadar gula darah hingga 20 -90 mg/dL. Selanjutnya diberikan ekstrak minyak buah merah dengan dosis yang berbeda untuk setiap kelompok yaitu 0,04 ml, 0,14 ml dan 0,20 ml. Hasil terbaik dicapai oleh kelompok yang diberi dosis 0,04 ml. Kadar gula darahnya turun 15% setelah 1 hari perlakuan, dan turun 17%, setelah 7 hari pemberian terapi ekstrak minyak buah merah.

Penelitian selanjutnya dilakukan oleh Aini (2007) tentang efek hipoglikemik ekstrak petroleum eter buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) pada kelinci new zealand jantan yang dibebani glukosa. Diperoleh hasil Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah (%PKGD) antar perlakuan ekstrak petroleum eter buah merah dosis 100, 200, 300 mg/kgBB berturut-turut 16,52%, 23,14%, 19,18%.

Percobaan lain juga telah dilakukan oleh Gatiningsih (2010) mengenai efek hipoglikemik ekstrak kloroform buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) pada kelinci new zealand jantan yang dibebani glukosa. Hasil perhitungan persentase kemampuan paling besar dalam menurunkan kadar glukosa darah secara berurutan adalah glibenklamid dosis 0,23mg/ kgBB sebesar 18,63 %, ekstrak kloroform buah merah dosis 300 mg kg /mg BB sebesar 17,99 % diikuti dosis 200 mg /kg BB sebesar 14,69 % dan dosis 100 mg /kg BB sebesar 11,97 %.

Berdasarkan pemaparan sebelumnya, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui efek terapi ekstrak etanol buah merah terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada tikus diabetes mellitus yang diinduksi streptozotocin. Sterptozotocin menginduksi terjadinya diabetes mellitus pada tikus melalui

perusakan DNA sel beta pankreas. Didalam sel beta pankreas streptozotocin merusak DNA melalui pembentukan NO, radikal hidroksil dan hidrogen perioksida yang merupakan agen radikal bebas. Apabila stress oksidatif terjadi berkepanjangan maka akan memicu terjadinya kerusakan sel dan jaringan yang akan mengakibatkan komplikasi vaskular pada DM (Szkudelski, 2001).

Ekstrak etanol buah merah mengandung golongan senyawa asam lemak, steroid/terpenoid, karotenoid, minyak atsiri, glikosida jantung, antrakuinon, flavonoid dan kumarin (Marliyana, 2009), yang merupakan senyawa antioksidan yang mempunyai kemampuan untuk melindungi sel dari pengaruh radikal bebas sehingga sekresi insulin dapat meningkat dan dapat menurunkan kadar glukosa darah, serta mampu melawan efek streptozotocin (Budi, 2005). Dengan pemberian terapi ekstrak etanol buah merah diharapkan penggunaan tumbuhan herbal khususnya dalam upaya terapi diabetes mellitus akan semakin meningkat, karena salah satu indikasi berhasilnya terapi pengobatan penyakit diabetes mellitus adalah peningkatan kadar enzim superoksida dismutase (Suarsana, 2011). Sehingga dapat mengoptimalkan tanaman alam di Indonesia, dan menjamin aktivitasnya sebagai antidiabetes dan mampu bermanfaat bagi masyarakat umum.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah ada peningkatan kadar enzim superoksida dismutase pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus setelah pemberian terapi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)?

2. Apakah ada pengaruh variasi dosis pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap kadar enzim superoksida dismutase pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) sebagai antidiabetik (hypoglycemic agent) melalui jalur ROS.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui adanya peningkatan kadar enzim superoksida dismutase pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus setelah pemberian terapi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.).
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi dosis pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dengan kadar enzim superoksida dismutase pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan mengetahui efek terapi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus yang diinduksi streptozotocin maka diharapkan penggunaan tumbuhan herbal khususnya ekstrak buah merah dalam upaya terapi diabetes mellitus akan semakin meningkat, sehingga bisa dilakukan

penelitian lebih lanjut tentang manfaat buah merah dalam upaya penanggulangan diabetes mellitus.

1.4.1 Bagi mahasiswa

Sebagai bentuk aplikatif ilmu Farmasi yang selama ini telah diperoleh.

1.4.2 Bagi tenaga kesehatan dan masyarakat

Memberikan alternatif lain dalam bentuk terapi herbal khususnya untuk terapi penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus.

1.4.3 Bagi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Hasil penelitian ini dapat menjadi sumber dan referensi pembelajaran untuk perpustakaan Universitas Bagi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang khususnya jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

1.4.4 Bagi penelitian lain

Sebagai sumbangan informasi dan ilmu yang dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

- Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) diperoleh dari papua.
- Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang digunakan berasal dari bagian keseluruhan buah.
- Ekstrak etanol buah merah diperoleh dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.
- Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus* L.) jantan, berumur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 g.
- Hewan coba diabetes mellitus didapatkan dengan perlakuan injeksi (streptozotocin) STZ 80 mg/KgBB
- Pengukuran aktivitas enzim superoksida dismutase dilakukan pada serum darah tikus

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Definisi

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit yang disebabkan oleh genetik dan/atau adanya defisiensi dalam produksi insulin yang dilakukan oleh pankreas atau ketidakaktifan insulin yang di produksi (WHO, 2016). Menurut American Diabetes Association (ADA) 2010, Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Diabetes mellitus (DM) adalah suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin (Ditjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005). Kondisi tersebut ditandai dengan intoleransi glukosa yang mengakibatkan hiperglikemia dan perubahan metabolisme protein serta lipid. Keadaan metabolik yang abnormal tersebut mempunyai kontribusi terhadap pengembangan penyakit komplikasi kronik baik mikroangiopati maupun makroangiopati (Alfarisi, 2012).

2.1.2 Klasifikasi

Menurut Perkeni (2011), Diabetes Mellitus diklasifikasikan menjadi:

1. Diabetes Mellitus tipe 1

Berdasarkan etiologinya, DM tipe 1 atau biasa disebut insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) didefinisikan sebagai adanya gangguan produksi insulin

sehingga penderita membutuhkan pasokan insulin. Kurangnya sekresi insulin pada diabetes mellitus tipe 1 disebabkan kerusakan yang bersifat autoimun di sel beta pankreas penghasil insulin. Ada sekitar 5-10% penderita diabetes yang mengalami diabetes tipe ini (Kroon et al., 2009) dan biasanya muncul sebelum penderita berusia 40 tahun (Ganong, 2002).

Pada Diabetes tipe 1 terdapat ketidak mampuan pankreas menghasilkan insulin karena hancurnya sel-sel beta pulau langerhans. Dalam hal ini menimbulkan hiperglikemia puasa dan hiperglikemia post prandial (Corwin, 2000). Dengan tingginya konsentrasi glukosa dalam darah, maka akan muncul glukosuria (glukosa dalam darah) dan ekskresi ini akan disertai pengeluaran cairan dan elektrolit yang berlebihan (diuresis osmotik) sehingga pasien akan mengalami peningkatan dalam berkemih (poliuria) dan rasa haus (polidipsia) (Corwin, 2000).

Defisiensi insulin juga mengganggu metabolisme protein dan lemak sehingga terjadi penurunan berat badan akan muncul gejala peningkatan selera makan (polifagia). Akibat yang lain yaitu terjadinya proses glikogenolisis (pemecahan glukosa yang disimpan) dan glukoneogenesis tanpa hambatan sehingga efeknya berupa pemecahan lemak dan terjadi peningkatan keton yang dapat mengganggu keseimbangan asam basa dan mengarah pada terjadinya ketoasidosis (Corwin, 2000).

2. Diabetes Mellitus tipe 2

Secara etiologi, DM tipe 2 atau non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) merupakan suatu kondisi resistensi insulin atau kekurangan sekresi insulin yang terjadi secara progresif dari waktu ke waktu (Triplitt et al., 2008). Sekitar 90-95% dari kasus diabetes, penderita mengalami DM tipe 2 (Kroon et al.,

2009). Diabetes mellitus tipe 2 terjadi pada usia lebih dari 40 tahun dan insidensinya lebih mayor pada orang dengan tubuh gemuk maupun usia lanjut (Tjay & Rahardja, 2002).

Terdapat dua masalah utama pada DM Tipe II yaitu resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Meskipun kadar insulin tinggi dalam darah tetapi glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel sehingga sel akan kekurangan glukosa (Corwin, 2000). Mekanisme inilah yang dikatakan sebagai resistensi insulin. Untuk mengatasi resistensi insulin dan mencegah terbentuknya glukosa dalam darah yang berlebihan maka harus terdapat peningkatan jumlah insulin yang disekresikan. Namun demikian jika sel-sel beta tidak mampu mengimbangnya maka kadar glukosa akan meningkat dan terjadilah DM tipe II (Corwin, 2000).

3. Diabetes mellitus gestasional (kehamilan)

Diabetes mellitus gestasional (DMG) didefinisikan sebagai kondisi intoleransi glukosa yang terjadi selama masa kehamilan. Penyakit ini terjadi sekitar 7% dari semua kehamilan. Deteksi klinis sangatlah penting untuk memulai terapi sehingga angka morbiditas dan mortalitas dapat dikurangi (Triplitt et al, 2008).

4. Diabetes Mellitus tipe lain

Diabetes mellitus tipe lain dapat disebabkan oleh defek genetik fungsi sel beta maupun kerja insulin, endokrinopati, infeksi, penyakit eksokrin pankreas, penggunaan obat atau zat kimia, penyakit imunologi, dan sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM (Perkeni, 2011).

2.1.3 Manifestasi Klinis

a. Poliuria

Kekurangan insulin untuk mengangkut glukosa melalui membrane dalam sel menyebabkan hiperglikemia sehingga serum plasma meningkat atau hiperosmolariti menyebabkan cairan intrasel berdifusi kedalam sirkulasi atau cairan intravaskuler, aliran darah ke ginjal meningkat sebagai akibat dari hiperosmolariti dan akibatnya akan terjadi diuresis osmotik (poliuria) (Bare & Suzanne, 2002).

b. Polidipsia

Akibat meningkatnya difusi cairan dari intrasel kedalam vaskuler menyebabkan penurunan volume intrasel sehingga efeknya adalah dehidrasi sel. Akibat dari dehidrasi sel mulut menjadi kering dan sensor haus teraktivasi menyebabkan seseorang haus terus menerus dan ingin selalu minum (polidipsia) (Bare & Suzanne, 2002).

c. Poliphagia

Karena glukosa tidak dapat masuk ke sel akibat dari menurunnya kadar insulin maka produksi energi menurun, penurunan energi akan menstimulasi rasa lapar. Maka reaksi yang terjadi adalah seseorang akan lebih banyak makan (poliphagia) (Bare & Suzanne, 2002).

d. Penurunan berat badan dan Malaise (kelemahan).

Karena glukosa tidak dapat di transport kedalam sel maka sel kekurangan cairan dan tidak mampu mengadakan metabolisme, akibat dari itu maka sel akan menciut, sehingga seluruh jaringan terutama otot mengalami atrofikan penurunan secara otomatis (Bare & Suzanne, 2002).

2.1.4 Diagnosis Diabetes Mellitus

Kriteria diabetes bagi semua individu yang tidak hamil menurut American Diabetes Association (ADA) yaitu sebagai berikut:

1. Mengalami beberapa gejala dan tanda DM (poliuria, polidipsia, ketonuria, dan penurunan berat badan yang tidak diketahui penyebabnya) disertai dengan kadar glukosa darah sewaktu (GDS) ≥ 200 mg/dL (11,0 mmol/L).
2. Kadar gula darah puasa (GDP) ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L). Puasa diartikan sebagai tidak mengonsumsi kalori sekurang-kurangnya 8 jam sebelum pemeriksaan.
3. Tes toleransi glukosa oral dilakukan dengan cara setelah pemberian glukosa secara oral yaitu 75 g glukosa untuk dewasa dan 1,75 g/kg untuk anak-anak, kadar glukosa darah vena mencapai ≥ 200 mg/dL pada 2 jam setelahnya dan mencapai >200 mg/dL pada 1 jam diwaktu yang lain selama pemeriksaan (0,5; 1; 1,5 jam) (Kroon et al., 2009).

2.2 Glukosa Darah

Glukosa merupakan sumber energi utama bagi sel manusia. Glukosa terbentuk dari karbohidrat yang dikonsumsi melalui makanan dan disimpan sebagai glikogen di hepar dan otot (Lestari, 2013).

Proses pencernaan makanan, karbohidrat mengalami proses hidrolisis, baik dalam mulut, lambung maupun usus. Hasil akhir proses pencernaan karbohidrat ialah glukosa, fruktosa, galaktosa, dan manosa serta monosakarida lainnya. Senyawa-senyawa ini kemudian diabsorpsi melalui dinding usus dan dibawa ke hepar oleh darah. Glukosa merupakan bahan untuk proses glikolisis, karena glukosa

terdapat dalam jumlah yang banyak bila dibandingkan dengan monosakarida lainnya. Oleh karena itu, bila jumlah glukosa yang diperoleh dari makanan terlalu berlebih, maka glukosa akan disimpan dan diubah menjadi glikogen dalam hepar dan jaringan otot. Proses sintesis glikogen dari glukosa ini disebut glikogenesis. Glikogen dalam hepar dapat pula dibentuk dari asam laktat yang dihasilkan pada proses glikolisis. Siklus pengubahan glukosa, asam laktat dan glikogen disebut siklus Cori (Poedjiadi, 2006).

Pembentukan glikogen dari glukosa, baik dalam hepar maupun dalam otot, dapat berlangsung karena adanya uridin difosfat glukosa. Glikogen dalam hepar dan otot dapat dipecah menjadi molekul glukosa-1-fosfat melalui suatu proses yang disebut fosforolisis (reaksi dengan asam fosfat). Glukosa-1-fosfat diubah menjadi glukosa-6-fosfat yang kemudian menjadi glukosa dan fosfat oleh enzim fosfatase. Glukosa akan masuk ke dalam darah dan dibawa ke jaringan-jaringan, proses ini terjadi di hepar. Sedangkan di dalam otot glukosa-1-fosfat diubah menjadi glukosa-6-fosfat karena tidak terdapat enzim fosfatase maka glukosa-6-fosfat tidak dapat diubah menjadi glukosa tetapi untuk digunakan lebih lanjut di dalam proses glikolisis (Poedjiadi, 2006).

Glukosa merupakan kunci untuk sekresi insulin, sehingga glukosa akan merangsang sekresi insulin dengan cara masuk ke dalam sel beta melalui transporter glukosa GLUT 2. Kemudian glukosa di dalam sel akan mengalami proses fosfolisis oleh enzim glukokinase dan glikolisis yang akan membebaskan ATP. Produksi ATP yang terbebas tersebut meningkat sehingga dibutuhkan untuk mengaktifkan proses penutupan K^+ channel yang terdapat pada membran sel. Terhambatnya pengeluaran ion K dari dalam sel menyebabkan depolarisasi membran sel, yang

kemudian diikuti oleh proses pembukaan Ca²⁺ channel. Keadaan inilah yang memungkinkan masuknya ion Ca sehingga meningkatkan kadar ion Ca intrasel, Ca akan masuk ke dalam sel dan berikatan dengan Calmodulin (Ca binding protein). Ikatan tersebut menstimulasi perlekatan granula yang mengandung insulin menuju membran sel, dimana granula berfusi dan isi granula dilepaskan ke ruang ekstraselular melalui eksositosis (Katzung, 2010). Setelah insulin disekresikan ke dalam sistem vena portal, sebagian besar bekerja di hepar. Reseptor insulin merupakan reseptor tirosin kinase yang aktifitasnya memfosforilasi tirosin pada protein di dalam sel yaitu Insulin Receptor Substrate (IRS). Terfosforilasinya ikatan IRS akan meningkatkan afinitas molekul transporter glukosa yaitu GLUT4 di membran sel hepar sehingga meningkatkan masuknya glukosa ke dalam sel (King, 1996).

Insulin merupakan hormon anabolik utama yang meningkatkan cadangan energi (Davani, 2003; Erwin, 2013). Kekurangan insulin dapat menyebabkan glukosa tertahan di luar sel, keadaan ini mengakibatkan sel mengalami kekurangan glukosa di dalam sel hepar kemudian glukosa akan dilepaskan sehingga terjadi hiperglikemia (Syarifuddin, 2009).

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dengan molekul lain. Adanya molekul ini membuat radikal bebas bersifat sangat reaktif karena kecenderungannya untuk menarik elektron dan berikatan dengan molekul lain sehingga mengubah struktur molekul awal menjadi

suatu radikal. Hal ini terjadi karena adanya pengurangan atau penambahan satu elektron pada molekul tersebut (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

2.3.2 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas dapat diperoleh secara endogen dan eksogen. Secara endogen, radikal bebas dihasilkan oleh rantai pernapasan ketika oksigen yang dihirup berubah menjadi energi oleh mitokondria sebagai hasil sampingan. Selain itu, secara endogen radikal bebas juga dapat didapat dari berbagai fungsi fisiologis tubuh normal lainnya seperti fungsi pencernaan dan metabolisme. Beberapa sel penghasil radikal bebas antara lain inti sel, mitokondria, membran sel, retikulum endoplasma, dan lisosom. Secara eksogen, radikal bebas diperoleh dari polutan, radiasi ultraviolet, asap rokok, pestisida, dan sebagai hasil sampingan dari metabolisme beberapa obat – obatan (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

2.3.3 Jenis-jenis Radikal Bebas

Radikal bebas terbagi menjadi dua jenis yaitu radikal bebas oksigen radikal bebas nitrogen. Radikal bebas oksigen adalah radikal bebas dimana terdapat satu gugus oksigen yang tidak berpasangan dalam strukturnya. Contoh radikal bebas oksigen antara lain : Superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil.

Radikal bebas nitrogen adalah radikal bebas yang memiliki satu gugus nitrogen yang tidak berpasangan dalam strukturnya. Contoh radikal bebas nitrogen antara lain : Nitrogen dioksida, peroksinitrit, dan dinitrogen dioksida. Beberapa jenis radikal bebas yang banyak dijumpai dan berbahaya dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Jenis ROS dan aktivitasnya

Jenis	Struktur Kimia	Deskripsi	Proses Pembentukan	Cara Kerja
Radikal Superoksida	O_2^-	Radikal bebas poten, sangat berperan pada kerusakan sel	Semua sel aerob	Mayoritas reaksi kimia sebagai agen pereduksi
Radikal Hidroksil	$\bullet OH$	Reaktivitas tinggi	Melalui radiolisis air	DNA, protein, karbohidrat, lipid
Radikal Hidroperoksil	HO_2^-	Hasil protonasi O_2	Dari H_2O_2	Membran Biologis
Hidrogen Peroksida	H_2O_2		Hasil samping pembentukan $\bullet OH$	Protein dan lipid
Singlet Oksigen	1O_2	Bentuk lain oksigen molekuler	Dihasilkan oleh fagosit dan katalasi oleh peroksidase	Perubahan DNA

(Sumber : Garcez dkk., 2004)

2.3.4 Radikal Bebas yang Berbahaya

Terdapat empat jenis radikal bebas yang berbahaya, yaitu (Cadenas dan Packer, 2002):

a. Superoksida (O_2^-)

Superoksida adalah radikal bebas yang paling umum ditemukan dalam tubuh dan merupakan sumber dari banyak radikal bebas lainnya, termasuk radikal hidroksil dan radikal hidrogen peroksida. Radikal superoksida dapat terbentuk pada fosforilasi oksidatif, oksigenasi hemoglobin, reaksi yang dikatalisiss oleh xantin oksidase, dan reaksi yang dikatalisis oleh NADH/NADPH oksidase (Cadenas dan Packer, 2002). Radikal superoksida dapat merusak membran sel, mitokondria,

kromosom dan dapat menyebabkan mutasi sel. Superoksida dinonaktifkan oleh Superoksida dismutase (SOD) dan superoksida reduktase (Sen et. al., 2000).

b. Hidrogen Peroksida (H_2O_2)

Hidrogen peroksida dihasilkan dari konversi superoksida oleh antioksidan. Hidrogen peroksida tidak lebih reaktif dari superoksida, dan dapat dikonversi oleh antioksidan, seperti katalase (yang bekerja di air) atau peroksidase glutathion (yang bekerja dalam lemak). Hidrogen peroksida dapat merusak DNA dalam sel, yang dapat menyebabkan mutasi dan kanker. Molekul ini juga dapat mengoksidasi lemak dan menimbulkan aterosklerosis.

c. Radikal Hidroksil ($\bullet OH$)

Merupakan radikal bebas yang paling reaktif dan berbahaya. Terbentuk saat hidrogen peroksida tidak sepenuhnya nonaktif. Radikal hidroksil merupakan radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mencetuskan reaksi berantai. Beberapa zat seperti besi, kadmium, atau merkuri dapat merangsang pembentukan hidrogen peroksida.

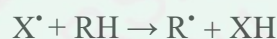
d. Oksigen Singlet (1O_2)

Oksigen hampir selalu terbentuk dalam keadaan berpasangan (O_2). Ketika oksigen terpisah, dua molekul singlet oksigen akan terbentuk. Singlet oksigen lebih reaktif daripada bentuk oksigen biasanya. Singlet oksigen terbentuk melalui reaksi – reaksi yang dikatalisis oleh enzim monooksidase, mieloperoksidase, dan prostaglandin endoperoksida sintetase. Kadar singlet oksigen yang tinggi berpengaruh pada pembentukan penyakit katarak, artritis, dan degenerasi makula.

2.3.5 Tahap Pembentukan Radikal Bebas

Secara umum, terdapat tiga tahapan pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2010), yaitu:

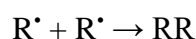
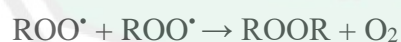
1. Tahap Inisiasi, yaitu tahap awal terbentuknya radikal bebas dimana senyawa non radikal menjadi senyawa radikal. Pada tahap ini dengan adanya oksigen bebas akan terjadi pengambilan atom H dari *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan kerusakan pada sel.



2. Tahap Propagasi, yaitu tahap terjadinya pemanjangan rantai radikal bebas akibat reaksi berantai yang meluas. Hasil dari reaksi ini akan menjadi inisiator baru untuk bereaksi dengan PUFA yang lain sehingga menghasilkan produk radikal baru.



3. Tahap Terminasi, yaitu tahap bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau senyawa penangkap radikal. Tahap ini mengkombinasikan dua radikal menjadi suatu produk non radikal.



2.3.6 Kerusakan Akibat ROS

Radikal bebas dapat mengganggu keseimbangan tubuh melalui beberapa cara, yaitu dengan cara:

1. Kerusakan membran sel
2. Kerusakan struktur protein
3. Memicu terjadinya peroksidasi lipid
4. Kerusakan struktur DNA
5. Memicu apoptosis sel

Radikal bebas akan menyebabkan proses autooksidasi pada struktur lipid. Autooksidasi akan merusak struktur lipid. Autooksidasi adalah rangkaian proses dimana radikal hidro peroksida mengikat atom dari gugus lipid terdekat sehingga menghasilkan hidroperoksida dan radikal alkil. Proses ini akan terjadi berulang - ulang dengan adanya radikal alkil dan bantuan oksigen (Beckman dan Ames, 1998).

Pada asam amino, radikal bebas akan menyebabkan penambahan basa atau gugus gula, menyebabkan patahan pada ikatan DNA atau RNA dan terjadinya *cross linking* dengan molekul lain (Beckman dan Ames, 1998). Pada protein, kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas sangat beragam. Beberapa kerusakan oksidatif yang terjadi diantaranya adalah reaksi dengan aldehida, oksidasi gugus sulfhidril, reduksi disulfida, *cross linking* protein, pemotongan peptida (Beckman dan Ames, 1998).

Reactive Oxygen Species adalah salah satu bentuk radikal bebas oksigen. ROS membahayakan tubuh karena reaktivitasnya yang tinggi (Simanjuntak, 2006). ROS merupakan radikal bebas yang dapat mengakibatkan perubahan lipid, protein, dan DNA sehingga berakibat pada stres oksidatif (Finaud et.al, 2006).

Stres oksidatif menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem pembentukan dan penangkapan radikal bebas sehingga menurunkan aktivitas antioksidan. (Kaleem et.al, 2006; Pari et.al., 2002). Peroksidasi lipid sebagai akibat dari stress oksidatif yang terjadi melalui tiga tahap merupakan reaksi berantai yang terus menghasilkan pasokan radikal bebas yang dapat merusak jaringan dan dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit inflamasi, diabetes, penuaan dan lain-lain.

2.3.7 Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah keadaan dimana tubuh mengalami ketidakseimbangan antara kadar radikal bebas atau jumlah pro oksidan di dalam tubuh dengan kemampuan tubuh untuk menetralsir. Hal ini akan menyebabkan penumpukan radikal bebas yang akan menimbulkan oksidasi makromolekul seperti protein, lipid, karbohidrat, asam amino, dan DNA. Oksidasi makromolekul ini dapat merusak struktur sel dan jaringan (Halliwell dan Gutteridge, 2007). Selain itu, penumpukan radikal bebas akan berakibat pada apoptosis sel yang akan mengganggu fisiologis tubuh secara keseluruhan.

Penyebab terjadinya stres oksidatif terbagi menjadi dua, yaitu:

1. Penurunan kadar antioksidan. Hal ini terjadi pada kurangnya diet yang kaya akan antioksidan, diet tinggi zat besi sehingga tidak cukup menghasilkan zat transferin dan adanya defisiensi protein seperti pada pasien kwashiorkor.
2. Peningkatan produksi radikal bebas. Hal ini terjadi ketika adanya peningkatan paparan tubuh terhadap oksigen, banyaknya toksin yang menghasilkan radikal bebas, adanya peradangan sehingga terjadi perlawanan

dari sistem pertahanan tubuh yang akan menghasilkan efek samping berupa peningkatan radikal bebas.

Stres oksidatif dapat menyebabkan peningkatan adaptasi, kerusakan sel, proliferasi sel, dan kematian sel. Stres oksidatif berperan pada patofisiologi berbagai penyakit saraf, jantung dan pembuluh darah, diabetes, kanker, dan peradangan pada proses penuaan tubuh (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

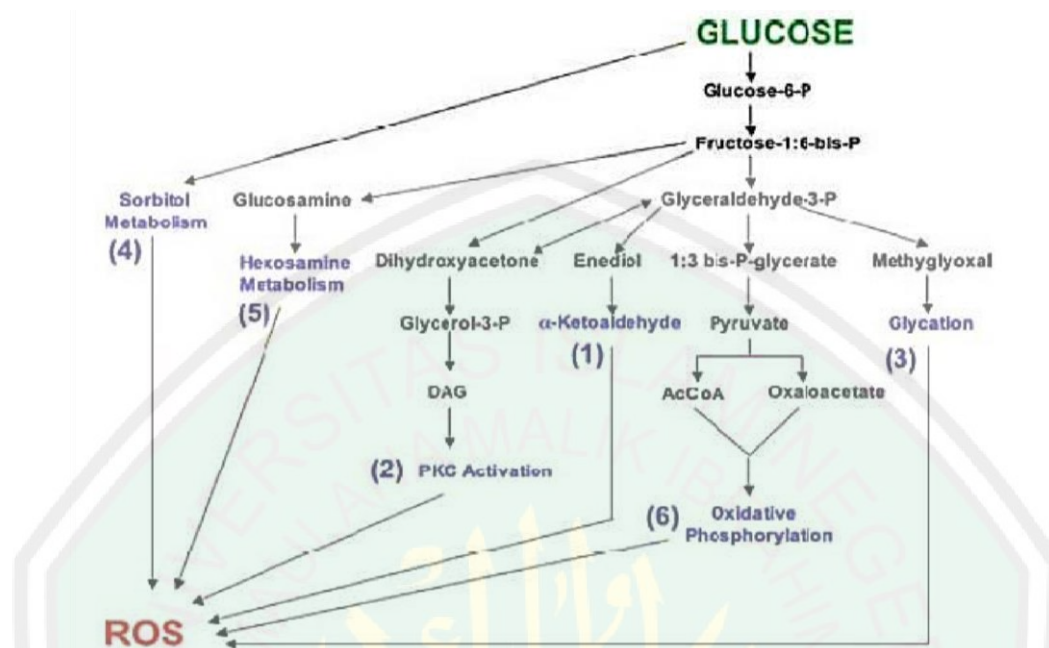
Stres oksidatif akan menyebabkan berbagai gangguan pada sistem tubuh diantaranya katarak, alzheimer, asma, peradangan, *pre eklampsia*, dll. Beberapa kondisi yang merupakan penyebab kematian yang cukup tinggi seperti gagal jantung, arteriosklerosis, dan diabetes pun dapat disebabkan oleh radikal bebas (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Saat normal, jumlah antioksidan dan radikal bebas seimbang, Sementara pada stres oksidatif, jumlah radikal bebas lebih banyak dibandingkan jumlah antioksidan. Pada keadaan normal, tubuh memiliki mekanisme untuk menetralkan radikal bebas melalui aktivasi antioksidan sehingga stres oksidatif dapat dihindari. Berdasarkan teori radikal bebas, kerusakan sel yang terjadi karena radikal bebas baru akan terjadi ketika kemampuan tubuh untuk melakukan mekanisme netralisasi ini terlampaui atau menurun (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

2.4 Hubungan Antara Diabetes Mellitus dengan Radikal Bebas

Pada diabetes mellitus, pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler yang akan terangsang sebagai respon oksidatif (Nuttal et al., 1999). Peningkatan kadar glukosa dapat menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) pada sel β melalui jalur autooksidasi glukosa, aktivasi protein kinase C (PKC),

pembentukan metilglioksal dan glikasi, metabolisme heksosamin, pembentukan sorbitol, dan fosforilasi oksidatif (Robertson, 2004).



Gambar 2.4.1 Jalur metabolisme glukosa yang dapat menghasilkan ROS

(Algameta, 2009)

1. Autooksidasi glukosa

Gliceraldehyde-3-Phospat dapat terenolisasi dan akan terbentuk ketonaldehid (jalur 1) (Robertson, 2004).

2. Aktivasi protein kinase (PKC)

Dihidroksiaseton dapat mengalami reduksi menjadi gliserol 3-fosfat dan asilasi yang dapat meningkatkan pembentukan diasilgliserol (DAG).

Pembentukan DAG dapat mengaktivasi PKC (jalur 2) (Robertson, 2004).

3. Pembentukan metal glioksal dan glikasi

Apabila pembentukan gliseraldehid 3-fosfat yang dikatalisasi gliseraldehid – fosfat dehidrogenase (GAPDH) mengalami kegagalan akibat

tingginya kadar glukosa, akumulasi gliseraldehid 3-fosfat dan dihidroksiaseton mendorong pembentukan metilglioksal (jalur 3) (Robertson, 2004).

4. Pembentukan sorbitol

Jalur poliol – sorbitol pada hiperglikemia dapat mereduksi glukosa dan menghasilkan sorbitol dengan mediasi aldosa reduktase. Kemudian sorbitol dikonversi menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase (jalur 4) (Chung dkk., 2003).

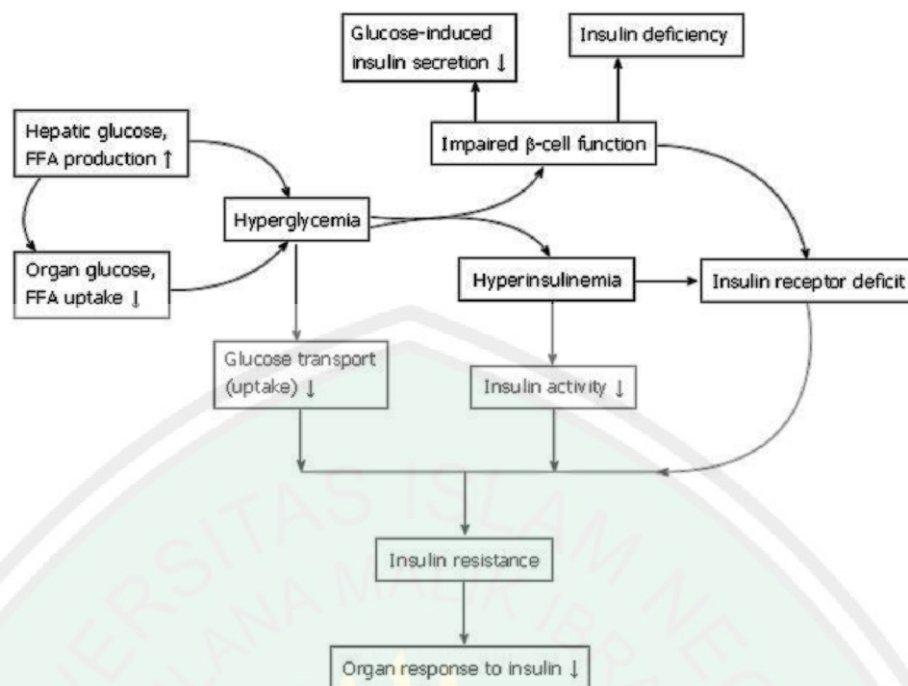
5. Metabolisme heksosamin

Pada kadar glukosa tinggi, fruktosa 6-fosfat melalui glutamine: fruktosa 6-fosfat aminotransferase (GFAT) akan membentuk glukosamin 6-fosfat (jalur 5) (Nishimura, 1998).

6. Fosforilasi oksidatif

Peningkatan kadar glukosa dapat meningkatkan proton mitokondria karena terlalu banyak donor elektron melalui siklus asam trikarboksilat. Hal ini dapat meningkatkan produksi superoksida mitokondria dan kegagalan pengeluaran insulin dari sel β pankreas (Robertson, 2004).

Peningkatan kadar glukosa dalam darah disebabkan oleh kerusakan pankreas sehingga tidak dapat menghasilkan insulin. Kerusakan pankreas ini dapat disebabkan oleh senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel pada pankreas sehingga tidak dapat berfungsi (Studiawan, 2005).



Gambar 2.4.2. Peningkatan kadar glukosa darah yang menyebabkan resistensi dan pengurangan jumlah insulin (Tangvarasittichal, 2015).

Peningkatan radikal bebas secara umum menyebabkan gangguan fungsi sel dan kerusakan oksidatif pada membran. Pada kondisi tertentu antioksidan mempertahankan sistem perlindungan tubuh melalui efek penghambat pembentukan radikal bebas. Efisiensi mekanisme pertahanan tersebut mengalami perubahan pada diabetes mellitus. Penangkapan radikal bebas yang tidak efektif dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Rajasekaran et.al, 2005; Kaleem et.al, 2006).

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi atau suatu zat yang dapat menetralkan atau menangkap radikal bebas (Murray et.al, 2000) dan melindungi jaringan biologis dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan berperan dalam pengobatan diabetes mellitus untuk memperbaiki sel

beta pankreas yang rusak sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin (Chauhan et.al, 2010).

2.5.1 Antioksidan dan Peranannya

Antioksidan adalah zat yang memiliki kemampuan untuk melawan efek radikal bebas. Antioksidan didefinisikan sebagai zat - zat yang dalam dosis lebih rendah dari zat yang mudah teroksidasi dapat menghambat proses oksidasi zat tersebut (Young dan Woodside, 2001). Antioksidan bekerja dengan cara mengikat radikal bebas sehingga radikal bebas tidak lagi bersifat reaktif. Antioksidan dibutuhkan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas sehingga tidak mengganggu ikatan molekul lain dan merusak struktur protein, lemak ataupun karbohidrat dalam tubuh.

Sebagai penetralisir radikal bebas, peran antioksidan dalam kesehatan sangat besar. Antioksidan berfungsi sebagai penghambat proses oksidasi. Oksidasi adalah jenis reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen, atau pelepasan elektron. Proses oksidasi adalah proses yang terjadi secara alami di alam sehingga sulit untuk menghindari dari efek buruk oksidasi. Maka dari itu, jumlah antioksidan yang memadai diperlukan untuk keberlangsungan hidup.

2.5.2 Jenis Antioksidan

Atas dasar mekanisme kerjanya antioksidan dapat dibedakan menjadi 3 yaitu (Simanjuntak dan Sudaryati, 1998):

a. Antioksidan primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum sempat bereaksi (Winarsi, 2005). Tubuh dapat menghasilkan

antioksidan berupa enzim yang aktif bila didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor. Antioksidan primer yang berperan sebagai kofaktor yaitu (Algameta, 2009):

1. *Superoksida dismutase (SOD)*

Superoksida dismutase adalah salah satu enzim yang berperan sebagai antioksidan dalam tubuh. Aktivitas SOD dapat dijadikan acuan pengukuran tingkat stres oksidatif dalam tubuh (Pavani dkk., 2012). Antioksidan ini merupakan enzim yang bekerja bila ada mineral-mineral seperti tembaga, mangan yang bersumber pada kacang-kacangan, padi-padian. Sebagai antioksidan, SOD bekerja mengkatalisa radikal superoksida yang terdismutasi menjadi hidrogen peroksida. Di bawah ini adalah contoh rekasi katalisis yang dimaksud.

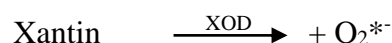


Enzim SOD dapat mengubah radikal O_2^- menjadi H_2O_2 dan O_2 .

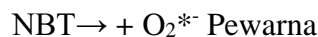
Pada manusia, kadar normal SOD adalah sebesar 242 ± 4 mg/L pada eritrosit, 548 ± 20 $\mu\text{g/L}$ pada serum, dan 173 ± 11 $\mu\text{g/L}$ pada plasma (Sun dkk., 1988). Penurunan aktivitas SOD berhubungan dengan kejadian penyakit seperti reumatoid arthritis, *anemia fanconi*, katarak, infeksi saluran pernapasan, infertilitas (Winarsi, 2007).

Prinsip dasar pengukuran superoksida dismutase (SOD) :

Reaksi antara xantin dan xantin oksidase yang digunakan menghasilkan O_2^{*-}



Radikal superoksida yang dihasilkan akan bereaksi dengan Blue tetrazolium (NBT) sehingga menghasilkan pewarna formazan biru ungu.



SOD yang terdapat dalam plasma atau serum berlomba dengan NBT untuk bereaksi dengan radikal superoksida sehingga menghambat pembentukan zat warna



Aktivitas SOD diukur pada 560 nm melalui derajat penghambatan (inhibisi) pembentukan zat warna (Widowati, 2005).

Aktivitas enzim SOD dapat dinilai berdasarkan kemampuannya menghambat reaksi yang dikatalisi oleh radikal superoksida, seperti menghambat reduksi sitokrom C dan nitro blue tetrazolium (NBT).

Enzim Superoksida dismutase memiliki 3 tipe, yaitu:

a. Copper Zinc Superoksida dismutase (CuZnSOD)

Terletak dalam sitoplasma dan organel dengan ukuran 32.000 kDA. Memiliki dua sub unit protein dengan kandungan atom tembaga dan zinc. CuZnSOD disebut juga sebagai SOD1. CuZnSOD berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Satu unit CuZnSOD diartikan sebagai banyaknya enzim yang dibutuhkan untuk menghambat autooksidasi pirogallol sebanyak 50 % (Young dan Woodside, 2001).

b. Mangan Superoksida Dismutase (MnSOD)

Terdapat di dalam mitokondria, MnSOD menjadi antioksidan utama dalam menghambat kerja superoksida di dalam mitokondria. Terdiri dari 4 sub unit dengan atom mangan dan memiliki ukuran sebesar 40.000 kDA. Merupakan tipe SOD terbanyak yang didapat pada cairan ekstraseluler.

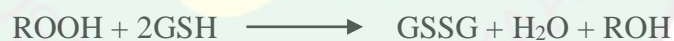
MnSOD disintesis terbatas oleh beberapa sel, diantaranya sel endotel dan fibroblast (Young dan Woodside, 2001).

c. Ferrum Superoksida Dismutase (FeSOD)

FeSOD merupakan enzim yang banyak ditemukan pada organisme prokaryot yaitu tumbuhan dan bakteri. FeSOD memiliki struktur kimia berupa tiga ion besi yang berikatan dengan tiga histidin, satu aspartat, dan satu molekul air (Lah et.al, 1995).

2. *Glutathione peroksidase*

Enzim tersebut mendukung aktivitas enzim SOD bersama-sama dengan enzim katalase dan menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan. *Glutathione* sangat penting sekali melindungi selaput-selaput sel. Enzim Glutation peroksidase berfungsi untuk mereduksi glutathione peroksida dengan bantuan hidrogen peroksida atau lipid peroksida. Dengan begitu, glutathione peroksidase juga membantu menghambat radikal bebas berupa hidrogen peroksida maupun lipid peroksida (Young and Woodside, 2001).



Glutation peroksidase terbanyak didapat di sitosol dan mitokondria. Hal ini sejalan dengan banyaknya hidrogen peroksida di kedua tempat tersebut. Glutation peroksidase membutuhkan kehadiran selenium agar dapat bekerja dengan baik. Selain itu, glutathione peroksidase juga membutuhkan kadar glutathione tereduksi yang konstan untuk menjalankan fungsinya. Enzim ini ditemukan terbanyak di dalam hepar, namun hampir semua jaringan tubuh memiliki sejumlah glutathione peroksidase (Young and Woodside, 2001).

3. Katalase

Enzim katalase di samping mendukung aktivitas enzim SOD juga dapat mengkatalisa perubahan berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan air (Arulselvan dan Subramanian, 2007). Enzim katalase berfungsi untuk merubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Katalase terbentuk dari 4 sub unit yang terdiri dari molekul NADPH dan protein Heme. Katalase ditemukan terbanyak di dalam peroksisome dimana hidrogen peroksida banyak terbentuk. Di dalam tubuh, katalase banyak ditemukan di dalam eritrosit dan hepar, walaupun hampir semua jaringan tubuh memiliki sejumlah enzim ini di dalamnya (Brioukhanov et.al, 2004).



b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah enzim (Winarsi, 2005).

Stres oksidatif menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem pembentukan dan penangkapan radikal bebas sehingga menurunkan aktivitas antioksidan. Secara umum reaktivitas oksigen pada sel ditangkap oleh enzim antioksidan. Penyakit

diabetes mellitus dapat menginduksi perubahan jaringan dan aktivitas enzim antioksidan. Agen hipoglikemik herbal beraksi pada penangkapan metabolit oksigen atau meningkatkan sintesis molekul antioksidan (Kaleem et.al, 2006; Pari dan Latha, 2002).

2.5.3 Mekanisme Antioksidan dalam Menangkal Radikal Bebas

Antioksidan dalam pengertian kimia didefinisikan sebagai senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam arti biologis pengertian antioksidan lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam (Pangkahila, 2007).

Menurut Gutteridge dan Halliwell (1996), antioksidan dalam tubuh manusia bekerja melindungi sel dengan beberapa mekanisme yaitu:

- a. Menangkap spesies turunan oksigen, baik dengan menggunakan protein katalis (enzim) atau dengan reaksi kimia secara langsung (yang mana antioksidan akan digunakan sebagai penerus reaksi)
- b. Meminimalisir pembentukan spesies turunan oksigen
- c. Mengikat ion logam yang berperan dalam pengubahan spesies kurang reaktif (seperti O_2^- dan H_2O_2) menjadi yang paling reaktif (seperti OH^*)
- d. Memperbaiki kerusakan sel
- e. Menghancurkan molekul target yang sangat rusak dan menggantikannya dengan yang baru.

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul yang lain dengan cara mengikat elektron tersebut dan mengakibatkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru (Valko et al., 2007). Apabila

tubuh terpapar oleh radikal bebas, maka radikal bebas tersebut akan mencari sel-sel atau senyawa-senyawa yang mudah untuk terikat sehingga akan membentuk senyawa yang lebih stabil. Jika tidak, radikal bebas tersebut akan mengikat sel-sel tubuh dan membentuk radikal baru sehingga ketika diakumulasikan akan mampu merusak jaringan tubuh dan menyebabkan penyakit. Oleh karena itu, antioksidan pada tubuh berperan sebagai senyawa yang menghambat pembentukan radikal baru.

2.5.4 Hubungan antara Diabetes Mellitus dengan Senyawa Antioksidan

Telah dijelaskan sebelumnya bahwa diabetes mellitus merupakan penyakit dengan komponen stres oksidatif yang memberi kontribusi nyata pada kerusakan fungsi sel β pankreas dan resistensi insulin. Munculnya stres oksidatif pada DM terjadi melalui tiga mekanisme, yakni glikasi nonenzimatik pada protein, jalur poliol sorbitol (aldosa reduktase), dan autooksidasi glukosa. Perubahan status oksidatif itu ditandai dengan perubahan aktivitas antioksidan endogen serta meningkatnya kerusakan biomolekul secara oksidatif. Oleh karena itu diperlukan antioksidan eksogen sebagai penghambat kerusakan oksidatif di dalam tubuh (Setiawan dan Suhartono, 2005).

Menurut Widowati (2008), beberapa mekanisme kerja antioksidan dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu:

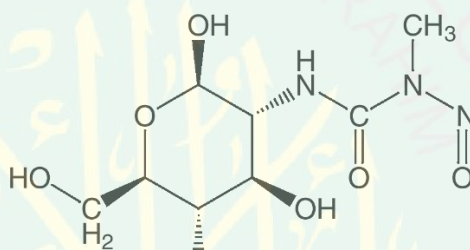
1. Beberapa antioksidan memiliki kemampuan sebagai astringen yaitu dapat mempresipitasikan protein selaput lendir usus sehingga menghambat asupan glukosa. Hal ini akan menurunkan laju peningkatan glukosa darah.
2. Antioksidan akan mempercepat keluarnya glukosa dari sirkulasi darah dengan mempercepat filtrasi dan ekskresi ginjal sehingga produksi urin meningkat.

Peningkatan produksi urin menyebabkan laju ekskresi glukosa melalui ginjal yang menyebabkan kadar glukosa dalam darah menurun.

3. Antioksidan akan mempercepat keluarnya glukosa melalui peningkatan metabolisme atau memasukkan kedalam deposit lemak. Proses ini akan melibatkan pankreas untuk memproduksi insulin.

2.6 Streptozotosin

Streptozotosin (STZ) disebut juga N asetil glukosamin (GlcNAc) yang didapat dari *Streptozotosin achromogenes* digunakan untuk membuat hewan model diabetes, baik DM tipe 1 maupun DM tipe 2 (Adeyemi et.al. 2009).

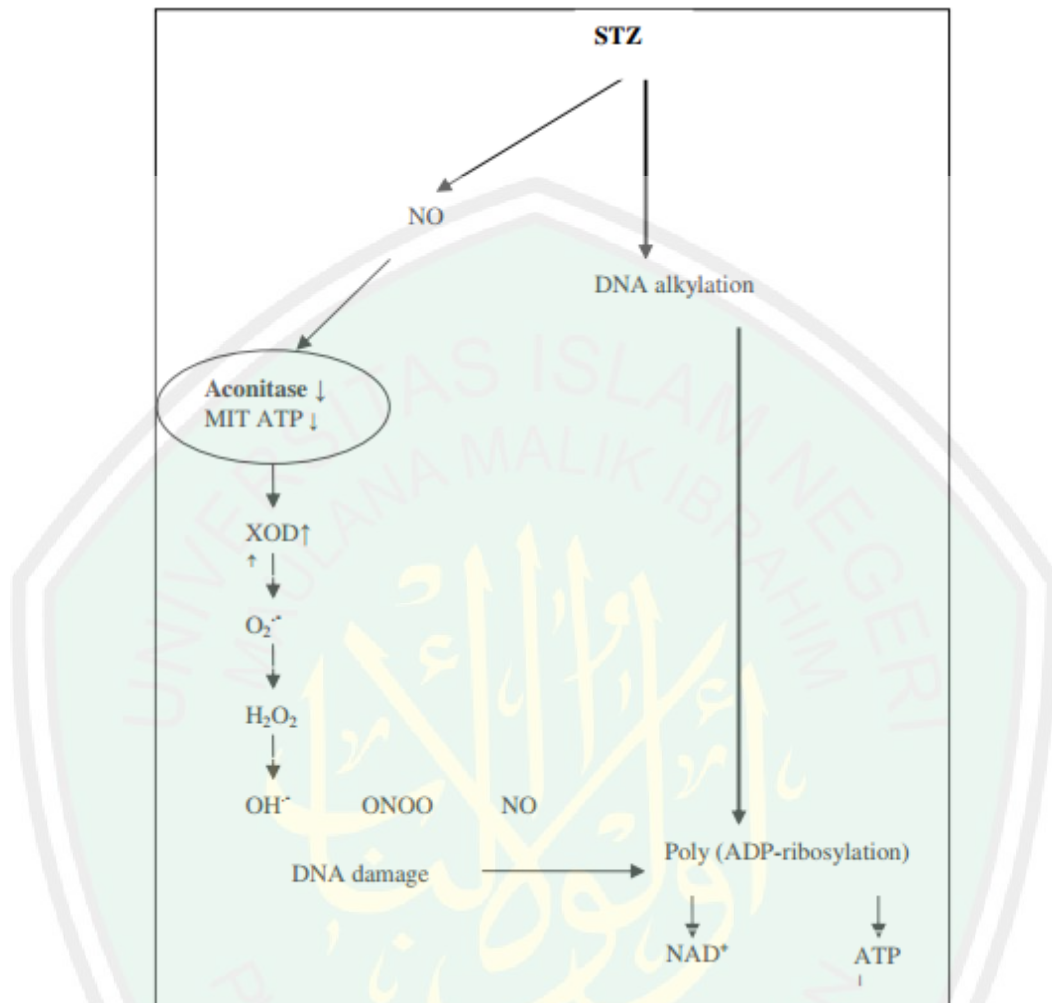


Gambar 2.6.1. Struktur *Streptozotocin* (google.com, 2016)

Dosis STZ yang dibutuhkan untuk menginduksi DM tipe 2 pada tikus 80 mg/kgBB secara intraperitoneal, dalam 2- 4 hari sudah terjadi hiperglisemia (Adeyemi et.al.,2009), Sedangkan dosis STZ yang dibutuhkan untuk babi untuk menginduksi DM tipe 2 pada babi 130 mg/kg berat badan secara IV dengan kisaran 110 - 150 mg/kg (Powers et.al.,2012).

STZ dalam pembuluh darah akan masuk ke dalam sel beta pulau Langerhan pancreas melalui transporter glukosa GLUT 2 yang selanjutnya akan mengalami metabolisme menghasilkan *Nitrit Oxide* (NO) yang dapat mengganggu atau merusak sel β pulau langerhan pancreas melalui mekanisme peningkatan guanil siklase dan pembentukan cGMP dan aktifnya oksigen reaktif. Injeksi STZ pada tikus

menyebabkan degenerasi sel β pulau langerhans pancreas yang pada gilirannya mengakibatkan penurunan sekresi insulin (Adeyemi et.al. 2009).



Gambar 2.6.2. Mekanisme Efek STZ pada Sel Beta Pankreas

Streptozotocin pada hewan coba dapat menginduksi perkembangan hiperglikemia yang lambat kemudian diikuti oleh infiltrasi/penyusupan lymphocytik ke pulau pankreas kemudian menyebar ke seluruh duktus pankreas. Selanjutnya limfosit ini dapat menghancurkan sel beta pankreas yang mengakibatkan diabetes mellitus (Wang, 2000) menambahkan bahwa sifat toksik streptozotocin dapat memicu proses autoimun yang mengarah pada perusakan sel beta pankreas yang diikuti oleh infiltrasi sel limfosit mononukleus, dan

diproduksinya sitokin oleh adanya infiltrasi tersebut. Sedangkan menurut Kolb dan Kroce dalam Nurdiana et al (1998) menyatakan bahwa streptozotocin: (1) menggagalkan penggunaan glukosa disebabkan alkilasi terhadap protein yang berperan dalam uptake dan metabolisme glukosa; (2) merusak mitokondria dan menggagalkan oksidasi; (3) merusak DNA. Akibat yang dapat ditimbulkan dari faktor-faktor tersebut adalah terganggunya persediaan energi sehingga terjadi kematian sel-sel beta pankreas.

Streptozotocin menginduksi terjadinya diabetes mellitus pada tikus melalui perusakan DNA sel beta pankreas. Didalam sel beta pankreas, streptozotocin merusak DNA melalui pembentukan NO, radikal hidroksil dan hidrogen peroksida. Perusakan DNA ini menstimulasi ribosilasi poli ADP DNA damage Poly (ADP-ribosylation) NAD + ATP selanjutnya menyebabkan deplesi NAD + dan ATP di dalam sel. Akibatnya produksi insulin terganggu dan jumlah yang dihasilkan berkurang atau bahkan dapat menyebabkan apoptosis sel (Szkudelski, 2001).

2.7 Tikus

2.7.1 Klasifikasi Tikus

Berbagai hewan coba mulai dikembangkan untuk mendukung kegiatan penelitian berbasis kesehatan salah satunya yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) seperti pada gambar di bawah ini:



Gambar 2.7. Tikus *rattus norvegicus* galur wistar (google.com, 2016)

Klasifikasi tikus (*Rattus norvegicus*) dapat dilihat sebagai berikut:

Kingdom	: Hewan
Filum	: Chordata
Sub-Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: Rattus norvegicus

Allah SWT telah menciptakan bermacam-macam hewan. Sebagaimana firman

Allah SWT dalam al-Quran surat an-Nur [24]: 45

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِنْ مَاءٍ ۖ فَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَنْ

يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ ۗ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۗ إِنَّ

اللَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya: Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu. (QS. an-Nur: 45)

Lafad wa minhum may yamsyi ‘ala rijlaini (sebagian berjalan dengan dua kaki) seperti ayam, angsa, bebek, dan lainnya wa minhum may yamsyi ‘ala arba (dan sebagian lainnya berjalan dengan empat kaki) seperti hewan-hewan ternak ternak lainnya (Shihab, 2002). Allah SWT telah menciptakan bermacam-macam jenis hewan, ada yang melata, berjalan dengan perutnya, berjalan dengan dua kaki dan ada pula yang berjalan dengan empat kaki. Hewan yang berjalan dengan empat kaki salah satunya yaitu tikus. Tikus termasuk hewan dari kelas: mamalia, ordo: rodentia, famili: muridae, genus: Rattus yang biasanya digunakan manusia sebagai model untuk penelitian. Hal itu semua menunjukkan kekuasaan Allah SWT yang harus kita jaga kelestarian hidupnya serta dalam menggunakan hewan coba haruslah sesuai dengan etika.

2.7.2 Deskripsi Tikus

Tikus merupakan hewan mamalia yang mempunyai peranan penting bagi manusia untuk tujuan ilmiah karena memiliki daya adaptasi yang baik. Tikus yang banyak digunakan sebagai hewan model laboratorium dan pemeliharaan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih memiliki beberapa keunggulan antara lain penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya kecil, sehat dan bersih, kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntingan yang singkat, serta memiliki karakteristik produksi dan reproduksi yang mirip dengan mamalia lain

(Malole dan Pramono, 1989; Pribadi, 2008). Ukuran tubuh tikus lebih besar dari pada mencit. Berbeda dengan hewan laboratorium lainnya, tikus tidak pernah muntah. Di samping itu tikus tidak memiliki kelenjar empedu. Lambung tikus terdiri dari dua bagian yaitu nonglandular dan glandular dan usus halus terdiri dari duodenum, jejunum, dan ileum. Pada umur 2 bulan berat badannya dapat mencapai 200-300 gram. Tikus tergolong hewan yang mudah dipegang tetapi bila dibanding mencit, ia kurang photophobic sehingga lebih sulit dipegang (Kusumawati, 2004).

2.8 Buah merah (*Pandanus conoideus Lamk.*)

2.8.1 Klasifikasi Tumbuhan Buah merah (*Pandanus conoideus Lamk.*)

Beranekaragam tanaman yang tumbuh di bumi ini, telah Allah SWT sebutkan dalam al-Quran surat al-Fathir [35]: 27

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ ثَمَرَاتٍ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهَا
وَمِنَ الْجِبَالِ جُدَدٌ بَيْضٌ وَحُمْرٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهَا وَغَرَابِيبُ سُودٌ

Artinya: Tidakkah kamu melihat bahwasanya Allah menurunkan hujan dari langit lalu Kami hasilkan dengan hujan itu buah-buahan yang beraneka macam jenisnya. Dan di antara gunung-gunung itu ada garis-garis putih dan merah yang beraneka macam warnanya dan ada (pula) yang hitam pekat. (Q.S. al-Fathir: 27).

Dalam ayat ini diterangkan bagaimana Allah menurunkan air itu dari langit yaitu dari tempat yang diatas kita; “maka kami keluarkan dengan dia buah-buahan dengan berbagai warnanya. Artinya dengan sebab turunnya air dari langit, yang berupa hujan itu maka suburlah bumi dan hiduplah segala-galanya. Diantaranya keluarlah dari bumi berbagai macam dan berbagai jenis buah-buahan serta berbagai kacang-kacangan dan lain-lainnya. Hal ini menunjukkan betapa ciptaan dan

pengaturan Allah menyangkut keanekaragaman tumbuhan sedemikian mempesona dan menjadi bukti betapa luas kekuasaan-Nya (Al-Maraghi, 1989)

Tanaman yang tumbuh di bumi ini, beranekaragam jenisnya serta memiliki manfaat yang berbeda-beda. Tanaman yang tumbuh di muka bumi ini salah satunya adalah tanaman Buah Merah (*pandanus coneideus*) yang banyak digunakan untuk pengobatan. Pemanfaatan buah merah salah satunya terdapat pada bagian buahnya, buah merah ditunjukkan pada gambar berikut :



Gambar 2.8.1. Buah merah (google.com, 2016)

Klasifikasi botani tanaman Buah Merah adalah sebagai berikut :

- Divisi : Spermatophyta
- Kelas : Angiospermae
- Subkelas : Monocotyledonae
- Ordo : Pandanales
- Famili : Pandanaceae
- Genus : Pandanus
- Spesies : *Pandanus conoideus* Lam.

Tanaman Buah Merah adalah tanaman yang masih satu famili dengan tanaman pandan. *Pandanus conoideus* ini di habitat aslinya (Pulau Papua). Tanaman berkayu ini tumbuh bercabang sampai mempunyai 5 cabang. Daunnya berbentuk pita yang pinggirnya berduri-duri kecil. Tinggi tanaman bisa mencapai 15 meter. Akarnya berbentuk akar udara yang menggantung sampai ketinggian satu meter dari pangkal batang. Tanaman ini berbuah saat berumur tiga tahun sejak ditanam. Buah merah umumnya berbentuk panjang lonjong atau agak persegi. Panjang buah 30-120 cm. Diameter buah 10-25 cm. Buah ini umumnya berwarna merah, merah kecokelatan, dan ada pula yang berwarna kuning. Kulit buah bagian luar menyerupai buah nangka. Di Papua, beberapa daerah yang menjadi sentra buah merah adalah daerah-daerah yang berada di sepanjang lereng pegunungan Jayawijaya. Di antaranya Kelila, Bokondini, Karubaga, Kobakma, Kenyam, dan Pasema (Hadad, 2005).

2.8.2 Morfologi dan Deskripsi

Tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) termasuk dalam famili Pandanus. Tanaman ini banyak ditemukan di Papua, Papua Nugini, dan secara sporadis mulai ditanam di beberapa daerah seperti Maluku, Sulawesi, Kalimantan, Jawa, dan Sumatera. Daerah penyebarannya di Papua cukup luas, meliputi lembah Baliem Wamena, Tolikara, Pegunungan Bintang, Yahukimo, Jayapura, daerah sekitar kepala burung (Sorong dan Manok-wari), dan beberapa daerah pedalaman (Jeremia Limbongan dan Afrizal Malik, 2009)

Tanaman buah merah tumbuh subur secara alami di dataran rendah hingga tinggi (Wamaer (hadad, 2005) dan Malik 2009). Masyarakat Papua secara turun-temurun mengolah buah merah menjadi minyak makan atau digunakan langsung sebagai penyedap masakan. Mereka mengenal buah merah sejak puluhan tahun lalu

sebagai makanan berenergi dan minyak makan, serta digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Ohtsuka dalam Surono et al. 2006).

Tanaman buah merah dikelompokkan menjadi empat tipe berdasarkan warna, ukuran, dan bentuk buah, yaitu buah merah panjang, buah merah pendek, buah merah kecoklatan, dan buah kuning (Hadad et al, 2005). Namun masyarakat papua membaginya menjadi 14 jenis. Keempat belas jenis tanaman ini umumnya memiliki sosok yang serupa. Perbedaannya hanya terletak pada bentuk, berat, dan warna buahnya. 14 jenis buah tersebut, yaitu: *Ogi* atau *Barugum*, *Maller*, *wonna*, *Bullur*, *Yanggiru*, atau *Wanggeni*, *kanenen*, *kwamir* dan *kumuluk*, *kwanggok*, *muni*, *Bomi*, *Magari*, *Ilinuk*, *yibagaya* dan *wigele*.



Gambar 2.8.2. *Pandanus conoideus* Lamk.

Tanaman buah merah dapat tumbuh pada dataran rendah hingga ketinggian 2.500 m dari permukaan laut (dpl), dengan kesuburan tanah rendah, masam sampai agak masam (Nainggolan, 2001). Salah satu sentra pengembangan tanaman buah merah di Papua adalah Kecamatan Kelila, yang terletak pada ketinggian 2.500 m dpl, dan tanahnya didominasi Podsolik dengan tekstur gelum. Kedalaman tanah sampai batas batuan kasar atau lapisan akar tanaman mampu menembus tanah untuk menyerap unsur hara berkisar antara 100–150 cm. Tanaman ini memiliki akar tunjang yang panjang dan jumlahnya banyak. Akar tersebut berfungsi menyerap

oksigen dari udara dan hara dari tanah. Tanaman lebih menghendaki tanah yang lembap (Jeremia Limbongan dan Afrizal Malik, 2009).

Berdasarkan hasil analisis tanah dari empat lokasi pengembangan buah merah di Papua, umumnya tanaman buah merah dapat tumbuh pada tanah kurang subur, banyak mengandung pasir, dan bersifat agak masam (pH 4,30–5,30) (Hadad et al, 2005). Tanaman tumbuh mengelompok di sekitar aliran sungai. Lebih dari 90% tanaman buah merah tumbuh secara liar atau dipelihara dengan teknologi budi daya dan pasca- panen seadanya. Iklim Papua sesuai bagi pertumbuhan tanaman buah merah. (Jeremia Limbongan dan Afrizal Malik, 2009).

2.8.3 Kegunaan di Masyarakat

Banyak tumbuh-tumbuhan yang telah Allah SWT tumbuhkan di muka bumi ini yang bermanfaat. Salah satu tumbuhan yang tumbuh subur dan memiliki banyak sekali manfaat bagi manusia untuk kesehatan yaitu Buah merah. Dari data empiris yang didapatkan oleh I Made Budi, menyimpulkan bahwa buah merah banyak dikonsumsi sebagai suplemen untuk membantu penyembuhan berbagai penyakit, antara lain kanker, HIV/AIDS, hipertensi, asam urat, stroke, gangguan pada mata (rabun,kebutaan), diabetes mellitus, serta osteoporosis (Yahya dan Wiryanta, 2005).

Selain itu Buah Merah digunakan oleh masyarakat sebagai penyedap makanan yang bernilai gizi tinggi karena mengandung beta-karoten, pewarna alami yang tidak mengandung logam berat dan mikroorganisme berbahaya. Selain itu buah merah difungsikan sebagai penunjang makanan pokok sehari-hari, dan obat berbagai penyakit yaitu kanker, HIV, malaria, kolesterol, diabetes mellitus, asam urat dan osteoporosis. Ampas buah merah dapat pula dimanfaatkan sebagai pakan

unggas sedangkan bagian akarnya dapat dibuat tali, pengikat dan tikar kemudian batangnya sebagai papan rumah (Moeljopawiro et.al, 2007^a; Limbongan dan Malik, 2009).

2.8.4 Kandungan Kimia

Kandungan kimia minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat adalah sebagai berikut :

Tabel 2.8.4. Kandungan kimia buah merah

Kandungan kimia	Nilai (per 100 g minyak)	Kandungan kimia	Nilai (per 100 g minyak)
Lipid	94,2 g	a-karoten	130 µg
Asam palmitat	19,7%	β –karotene	1.980 µg
Asam oleat	64,9%	β –cryptoxanthin	1.460 µg
Asam linoleat	8,6%	Vit E (a-tocopherol)	21,2 mg
Karbohidrat	5,1 g	Sodium	3 mg

(Waspodo dan Nishigaki, 2007)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh I Made Budi (2001), buah merah mengandung zat-zat antioksidan, di antaranya karotenoid (12.000 ppm), tokoferol 11.000 ppm, betakaroten (700 ppm), α-tokoferol (500 ppm), asam oleat (58%), asam linoleat (8,8%), asam linolenat (7,8%), dan asam dekanoat (2,0%). Zat-zat tersebut merupakan zat antioksidan yang baik, misalnya betakaroten. Betakaroten berfungsi memperlambat berlangsungnya penumpukan flek pada arteri. Interaksinya dengan protein hewani meningkatkan produksi antibodi. Betakaroten meningkatkan jumlah sel-sel pembunuh alami dan memperbanyak aktivitas sel-sel T helpers dan limposit. Konsumsi betakaroten 30-60 mg/hari

selama 2 bulan membuat tubuh memiliki sel-sel pembunuh alami lebih banyak (Machmud dan Bernard, 2005).

2.9 Ekstraksi

Ekstraksi adalah cara untuk memisahkan campuran beberapa komponen menjadi komponen yang terpisah. Tahapan yang harus diperhatikan dalam mengekstraksi jaringan tumbuhan adalah penyiapan bahan sebelum ekstraksi, pemilihan pelarut dan kondisi proses ekstraksi, proses pengambilan pelarut, pengawasan mutu dan pengujian yang dikenal pula sebagai tahapan penyelesaian. Penggunaan pelarut bertitik didih tinggi menyebabkan kerusakan komponen komponen senyawa penyusun. Pelarut yang digunakan harus bersifat inert terhadap bahan baku, mudah didapat dan harganya murah (Sabel et al., 2006).

Pemilihan pelarut harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah terbakar dan selektif. Selektif yaitu hanya menarik zat yang dikehendaki. Polaritas pelarut sangat berpengaruh terhadap daya larut. Indikator kelarutan pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik dan nilai polaritas pelarut (Wibudi, 2006).

Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut karena lebih selektif dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Selain itu, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Guna meningkatkan ekstraksi, biasanya digunakan campuran antara etanol dan air dalam berbagai perbandingan tergantung pada bahan yang akan diekstrak (Voight, 1994 dalam Wibudi 2006).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna. Metode pembuatan ekstrak yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, sokletasi (Ansel, 1989 dalam Wibudi, 2006).

Metode maserasi digunakan dengan cara merendam sampel dengan pelarut sesuai, baik murni maupun campuran. Setiap waktu tertentu filtratnya diambil dan residunya ditambahi pelarut baru. Demikian seterusnya sampai semua metabolit yang diperkirakan ada dalam sampel tersebut terekstrak. Metode perkolasi biasanya digunakan dengan cara melewatkan pelarut tetes demi tetes pada sampel yang diekstrak. Pelarut yang digunakan sebaiknya tidak mudah menguap. Pada metode ini dibutuhkan pelarut yang lebih banyak (Ansel, 1989 dalam Wibudi, 2006).

Hasil ekstraksi dari maserasi berupa filtrat (zat terlarut dalam pelarut). Setelah pelarutnya diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*) akan menghasilkan ekstrak yang dapat berbentuk padatan atau cairan (Ansel, 1989 dalam Wibudi, 2006).

2.10 Spektrofotometri

2.10.1 Pengertian Spektrofotometri

Pada awalnya, spektroskopi adalah ilmu yang mempelajari tentang radiasi sinar tampak yang berinteraksi dengan molekul pada panjang gelombang tertentu dan menghasilkan suatu spektra, yang merupakan hasil interaksi antara energi radian dengan panjang gelombang atau frekuensi. Kemudian pengertian ini dikembangkan tidak hanya untuk radiasi sinar tampak, tapi juga jenis radiasi elektromagnetik yang lain seperti sinar X, ultraviolet, inframerah, gelombang

mikro, dan radiasi frekuensi radio. Ilmu yang berhubungan dengan pengukuran spektra tersebut dinamakan spektrofotometer (Skoog, 1996). Spektrofotometri UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Vis (FI edisi IV, 1995).

Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan. Ketika panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui (biasanya 1 cm dalam spektrofotometri) ke suatu point dimana persentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi diukur dengan phototube. (Harmita, 2006)

2.10.2 Komponen Spektrofotometri UV-Vis

Untuk mendapatkan hasil pengukuran yang optimum, setiap komponen dari instrumen yang dipakai harus berfungsi dengan baik. Komponen-komponen spektrofotometri UV-Vis meliputi:

1. Sumber Radiasi Sumber energi radiasi yang biasa untuk daerah tampak dari spektrum itu maupun daerah ultraviolet dekat dengan inframerah dekat adalah sebuah lampu pijar dengan kawat rambut terbuat dari wolfram (Underwood, 2002).
2. Monokromator Ini adalah piranti optis untuk mengisolasi suatu berkas radiasi dari suatu sumber berkesinambungan, berkas mana mempunyai

kemurnian spektral yang tinggi dengan panjang gelombang apa saja yang diinginkan. Komponen yang esensial dari sebuah monokromator adalah suatu sistem celah masuk, kemudian disejajarkan oleh lensa atau cermin sehingga suatu berkas sejajar jatuh ke unsur pendispersi, yang berupa prisma atau suatu kisi difraksi. Dengan memutar prisma atau kisi itu secara mekanis, aneka porsi spektrum yang dihasilkan oleh unsur dispersi dipusatkan pada celah keluar, dari situ, lewat jalan optis lebih jauh, porsiporsi itu menjumpai sampel (Underwood, 2002).

3. Sel Kebanyakan spektrofotometri melibatkan larutan, dan karena kebanyakan wadah sampel adalah sel untuk menaruh cairan kedalam berkas cahaya spektrofotometer. Sel itu harus meneruskan energi radiasi dalam daerah spektral yang diminati, jadi sel kaca melayani daerah tampak, sel kuarsa atau kaca silika tinggi istimewa untuk daerah ultraviolet dan garam dapur alam untuk inframerah. Sel tampak dan ultraviolet yang khas mempunyai panjang lintasan 1 cm, namun tersedia sel dengan ketebalan yang sangat beraneka, mulai dari lintasan yang Universitas Sumatera Utara 13 sangat pendek, kurang daripada 1 milimeter sampai 10 cm atau bahkan lebih (Underwood, 2002).
4. Detektor Dalam sebuah detektor untuk suatu spektrofotometer, kita menginginkan kepekaan yang tinggi dalam daerah spektral yang diminati, respons yang linear terhadap daya radiasi, waktu respons yang cepat, dapat digandakan, dan kesetabilan yang tinggi atau tingkat noise yang rendah, meskipun dalam praktiknya perlu untuk mengkompromikan faktor-faktor ini (Underwood, 2002).

2.10.3 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer (Beer's law) adalah hubungan linearitas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan analit. Dua hukum empiris telah merumuskan tentang intensitas serapan. Hukum Lambert telah menyatakan bahwa fraksi penyerapan sinar tidak bergantung dari intensitas sumber cahaya. Hukum Beer mengatakan bahwa penyerapan sebanding dengan jumlah molekul yang menyerap (Sudjadi, 1983) Gabungan dari hukum Lambert-Beer menurunkan secara empiris hubungan antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan, dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat.

Rumus :

$$A = \log (I_0/I_t) = \epsilon \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c$$

Dimana :

A = Serapan

I_0 = Intensitas sinar yang datang

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

ϵ = Absorptivitas molekuler ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) = $a \times BM$

a = Daya serap ($L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$)

b = Tebal larutan / kuvet (cm)

c = Konsentrasi zat (g/L, mg/mL)

2.10.4 Hal-Hal Yang Harus Diperhatikan Dalam Analisis Spektrofotometri

Uv-Vis

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri ultraviolet yaitu:

1. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi absorbansi maksimum. Untuk memperoleh panjang

gelombang serapan maksimum dapat diperoleh dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku dengan konsentrasi tertentu.

2. Pembuatan kurva kalibrasi

Dilakukan dengan membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorbansi tiap konsentrasi diukur lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Kurva kalibrasi yang lurus menandakan bahwa hukum Lambert-Beer terpenuhi.

3. Pembacaan absorbansi sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini disebabkan karena pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Rohman, 2007).

2.11 Analisis Varian

Analysis of variance atau ANOVA merupakan salah satu teknik analisis multivariate yang berfungsi untuk membedakan rerata lebih dari dua kelompok data dengan cara membandingkan variansinya. Analisis varian termasuk dalam kategori statistik parametric. Sebagai alat statistika parametrik, maka untuk dapat menggunakan rumus ANOVA harus terlebih dahulu perlu dilakukan uji asumsi meliputi normalitas, heterokedastisitas dan random sampling (Ghozali, 2009). Analisis varian dapat dilakukan untuk menganalisis data yang berasal dari berbagai macam jenis dan desain penelitian. Analisis varian banyak dipergunakan pada penelitian-penelitian yang banyak melibatkan pengujian komparatif yaitu menguji

variabel terikat dengan cara membandingkannya pada kelompok2 sampel independen yang diamati. Analisis varian saat ini banyak digunakan dalam penelitian survey dan penelitian eksperimen. One-way anova dilakukan untuk menguji perbedaan tiga kelompok atau lebih berdasarkan satu variabel independen.

Anova (analysis of varians) digunakan untuk menguji perbedaan mean (ratarata) data lebih dari dua kelompok, kata kunci untuk anova ini adalah "lebih dari dua kelompok". Misalnya untuk mengetahui apakah ada perbedaan rata-rata lama hari dirawat antara pasien kelas VIP, I, II, dan kelas III. Anova mempunyai dua jenis yaitu analisis varian satu faktor (one way anova) dan analisis varian dua faktor (two ways anova). Pada penelitian ini hanya akan menggunakan analisis varian satu faktor atau One Way Anova.

Beberapa asumsi yang harus dipenuhi pada uji Anova adalah:

1. Sampel berasal dari kelompok yang independen
2. Data masing-masing kelompok berdistribusi normal
3. Varian antar kelompok harus homogen

Asumsi pertama harus dipenuhi pada saat pengambilan sampel yang dilakukan secara random terhadap beberapa (>2) kelompok yang independent, yang mana nilai pada satu kelompok tidak tergantung pada nilai di kelompok lain. Sedangkan pemenuhan terhadap asumsi kedua dan ketiga dapat dicek jika data telah dimasukkan ke komputer, jika asumsi ini tidak terpenuhi dapat dilakukan transformasi terhadap data. Apabila proses transformasi tidak juga dapat memenuhi asumsi ini maka uji Anova tidak valid untuk dilakukan, sehingga harus menggunakan uji non-parametrik misalnya Kruskal Wallis.

Uji Anova pada prinsipnya adalah melakukan analisis variabilitas data menjadi dua sumber variasi yaitu variasi didalam kelompok (within) dan variasi antar kelompok (between). Bila variasi within dan between sama (nilai perbandingan kedua varian mendekati angka satu), maka berarti tidak ada perbedaan efek dari intervensi yang dilakukan, dengan kata lain nilai mean yang dibandingkan tidak ada perbedaan. Sebaliknya bila variasi antar kelompok lebih besar dari variasi di dalam kelompok, artinya intervensi tersebut memberikan efek yang berbeda, dengan kata lain nilai mean yang dibandingkan menunjukkan adanya perbedaan.

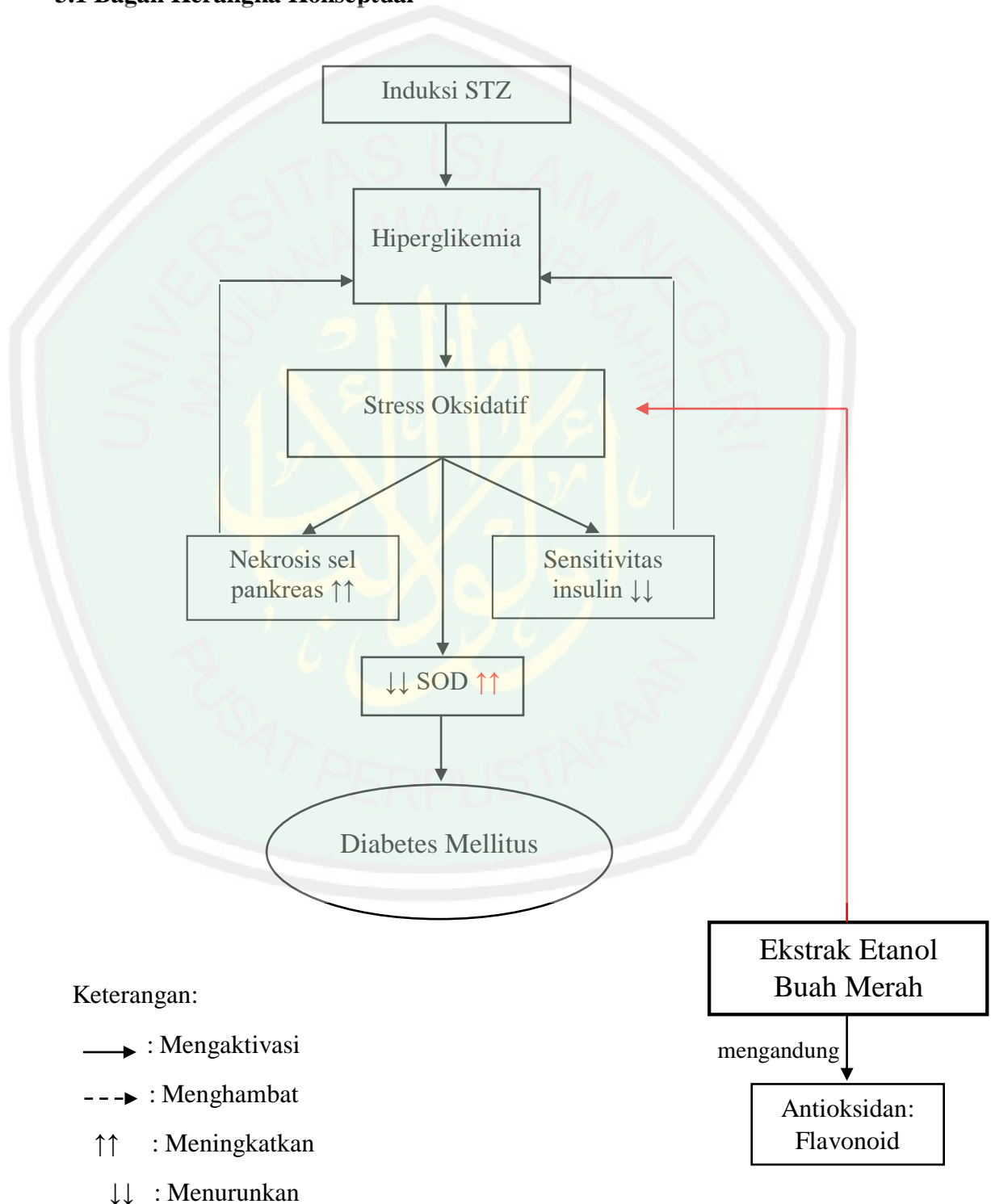
Selanjutnya proses akhir adalah melakukan pengujian keakuratan. Hal ini dapat dilakukan dengan melakukan analisis clustering homogenitas dimana setiap objek data dalam satu kelompok selalu menampilkan kemiripan nilai tertentu. Sehingga dapat terlihat apakah cluster yang terbentuk ideal atau tidak. Pengujian homogenitas pada tiap objek dalam satu kelompok dapat menggambarkan apakah proses clusterisasi berjalan dengan baik atau apakah objek masuk dalam cluster yang tepat atau tidak.

Kualitas cluster yang baik memiliki homogenitas antara objek yang satu dengan objek yang lain dalam satu cluster atau memiliki heterogenitas antara objek dalam satu cluster dengan objek yang lain dalam cluster yang berbeda (Everit et al, 2011). Oleh sebab itu pengujian berdasarkan nilai variansi perlu dilakukan untuk memeriksa nilai dari penyebaran dalam sebuah kelompok menggunakan analisis variansi.

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



3.2 Uraian Kerangka Konsep

Penyakit DM merupakan penyakit yang berkaitan dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hiperglikemia pada DM diakibatkan oleh karena kelainan sekresi insulin atau kerja insulin. Hiperglikemia telah terbukti dapat menyebabkan perubahan permanen dalam protein dalam berbagai percobaan diabetes dengan induksi STZ.

Streptozotosin secara luas telah digunakan untuk menginduksi DM, baik insulin-dependent dan non-insulin-dependent diabetes mellitus pada hewan coba. Pemberian dosis streptozotosin yang tepat dapat memulai proses autoimun yang mengarah pada kerusakan pankreas dan efek toksik DM eksperimental ini akan terlihat dalam 2-4 hari. Streptozotosin menginduksi terjadinya diabetes mellitus pada tikus melalui perusakan DNA sel beta pankreas melalui pembentukan NO, radikal hidroksil dan hidrogen peroksida. Perusakan DNA ini menstimulasi ribosilasi poli ADP yang selanjutnya menyebabkan deplesi NAD⁺ dan ATP di dalam sel. Akibatnya produksi insulin terganggu dan jumlah yang dihasilkan berkurang atau bahkan dapat menyebabkan apoptosis sel (Szkudelski, 2001). Keempat jalur yaitu jalur poliol, jalur peningkatan produksi AGEs, jalur aktivasi PKC, jalur hexosamine pathway flux juga berpengaruh besar terhadap meningkatnya produksi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida tersebut akan bereaksi dengan molekul-molekul biologi termasuk protein dan lipid serta dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel (Slatter, 2000). Bila stress oksidatif terjadi berkepanjangan maka akan memicu terjadinya kerusakan sel dan jaringan yang akan mengakibatkan komplikasi vaskular DM.

Kondisi stress oksidatif yang disebabkan radikal bebas ini memerlukan ketersediaan antioksidan dalam jumlah yang cukup, sehingga dapat mengurangi kerusakan akibat radikal bebas (Wiyono, 2003). Secara normal, tubuh mempunyai strategi yang sistematis untuk memerangi pembentukan radikal bebas. Sistem ini dapat berupa sistem enzimatik seperti peningkatan enzim superoksida dismutase (SOD) (Fridovich, 1975). SOD sebagai antioksidan endogen akan meningkatkan aktivitasnya untuk meredakan stres oksidatif, sehingga dapat melindungi sel-sel beta pankreas (Arkhesi, 2008). Oleh karena itu dibutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh untuk membantu menangkal radikal bebas dalam tubuh. Salah satu alternatif pengobatan adalah menggunakan obat tradisional yang berasal dari tanaman misalnya penggunaan buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang berfungsi sebagai antioksidan.

Ekstrak etanol buah merah mengandung golongan senyawa asam lemak, steroid/terpenoid, karotenoid, minyak atsiri, glikosida jantung, antrakuinon; flavonoid dan kumarin (Marliyana, 2009). Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan yang melindungi jaringan terhadap kerusakan oksidatif akibat radikal bebas, sehingga dapat mencegah komplikasi atau progresifitas DM (Soewonto, 2001). Mekanisme lain dari flavonoid yang menunjukkan efek hipoglikemik yaitu mengurangi penyerapan glukosa dan mengatur aktivitas ekspresi enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat (Brahmachari, 2011). Aktivitas flavonoid lainnya juga dapat menghambat enzim alfa glikosidase yang berfungsi untuk pemecahan karbohidrat. Penghambatan enzim alfa glikosidase ini menyebabkan penundaan penyerapan glukosa yang pada akhirnya juga akan menurunkan kadar glukosa darah. (Lugasi et al., 2003).

Berdasarkan uraian kandungan aktif Ekstrak Etanol Buah Merah tersebut, maka diharapkan estrak etanol buah Merah dapat dikembangkan sebagai fitofarmaka yang nantinya dapat diolah menjadi bahan yang lebih mudah dimanfaatkan terutama sebagai terapi DM termasuk komplikasi-komplikasinya.

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dapat meningkatkan kadar enzim superoksida dismutase pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus.
2. Pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) berpengaruh terhadap peningkatan kadar enzim superoksida dismutase pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian uji pengaruh pemberian etanol buah merah terhadap kenaikan kadar enzim superoksida dismutase tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus yang diinduksi streptozotocin merupakan penelitian eksperimental sesungguhnya (true experimental) dengan menggunakan rancangan Postest only control Group Design, sedangkan pemilihan objek penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 6 kelompok perlakuan 3 ulangan. (Pocock, 2008). Perlakuan yang digunakan adalah tikus kontrol negatif (tikus sehat), tikus kontrol positif (tikus diabetes) dan tikus diabetes yang diberi ekstrak etanol buah merah dengan 4 dosis yang berbeda yaitu dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB/hari.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-April 2017 di Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan di Laboratorium faal FK UB.

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus* L.).

4.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum darah yang diambil dari jantung tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus* L.).

4.3.2.1 Jumlah sampel

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur Wistar kelamin jantan umur 10-12 minggu dengan berat badan rata-rata 150-200 gram. Besar sampel yang digunakan sebesar 30 ekor tikus putih. Sampel sebesar 30 ekor tikus, dihitung berdasarkan rumus Federer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$ dimana t = banyaknya kelompok mencit dan n = jumlah tikus untuk tiap kelompok (Sinta, 2010). Besar sampel ideal menurut hitungan rumus Federer diatas adalah 4 ekor tikus putih atau lebih. Pada penelitian ini digunakan adalah 5 ekor tikus Dengan demikian jumlah tikus jantan semua kelompok uji secara keseluruhan adalah 30 ekor.

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

$$\leftrightarrow (6-1) (n-1) \geq 15$$

$$\leftrightarrow 5 (n-1) \geq 15$$

$$\leftrightarrow 5n - 5 \geq 15$$

$$\leftrightarrow 5n \geq 20$$

$$\leftrightarrow n \geq 4 (n = 5)$$

4.3.2.2 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi merupakan suatu kondisi yang diinginkan untuk digunakan dalam penelitan ini. kriteria inklusi dalam penelitian ini sebagai berikut : Jenis kelamin jantan, Sehat selama penelitian, gerakan lincah, mata cerah, bulu halus, nafsu makan baik, anatomi tubuh sempurna, umur 10-12 minggu dengan berat badan rata-rata 150-200 gram.

4.3.2.3 Kriteria Eksklusi

Kriteria Eksklusi merupakan suatu kondisi yang tidak diinginkan dalam penelitian ini. Kriteria eksklusi dalam penelitian ini sebagai berikut: Sakit dalam masa persiapan atau adaptasi tubuh melemah, kurang lincah, mata pudar, nafsu makan turun, bulu kasar dan berdiri, dan cacat fisik.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

4.4.1 Variabel bebas

Ekstrak Etanol buah merah dengan dosis berbeda yaitu dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB/hari.

4.4.2 Variabel tergantung

Kadar enzim superoksida dismutase

4.4.3 Variabel terkendali

Jenis hewan coba yang digunakan, jenis kelamin, umur, galur, berat badan tikus, dan dosis induksi STZ secara intraperitoneal.

4.4.4 Definisi Operasional

1. Ekstrak Etanol buah merah : Ekstrak etanol buah merah didapatkan melalui beberapa tahap yaitu Buah Merah diambil dari daerah Papua, dicuci dengan air sampai bersih, dirajang kecil kecil, dikeringkan, kemudian diserbuk dengan blender. Serbuk yang sudah jadi digunakan untuk ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.
2. Aktivitas enzim superoksida dismutase dapat berubah akibat adanya perubahan pada kadar ROS. Enzim superoksida dismutase, glutathione

peroksidase dan katalase termasuk enzim antioksidan intrasel yang diproduksi dalam tubuh yang berfungsi penting bagi tubuh untuk meredam radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan sel. Enzim superoksida dismutase sebagai salah satu enzim antioksidan intrasel bekerja dengan cara membersihkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. SOD mengkatalisis reaksi dismutasi radikal bebas anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga tidak berbahaya bagi sel (Halliwell 2006).

3. STZ : Streptozotosin (STZ) disebut juga N asetil glukosamin (GlcNAc) Streptozotosin dapat secara langsung merusak masa kritis sel beta Langerhans atau menimbulkan proses autoimun terhadap sel beta (Rowland dan Bellush; 1989; Rees dan Alcolado, 2005 dalam Nugroho,2006). Streptozotosin (STZ) atau 2-deoksi-2-[3-(4-hydroxy-3-nitrosoureido)-Dglukopiranos] diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji.
4. Tikus : Tikus yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur wistar, jenis kelamin jantan, berumur sekitar 10-12 minggu, memiliki berat \pm 150-200 gram, dan dalam kondisi fisik yang sehat. Kesehatan hewan coba memiliki ciri-ciri sebagai berikut (Farris EJ, Griffith JG, 1962): Bermata jernih, Bulu mengkilat, Gerakan aktif, Tinja baik / tidak lembek dan Berat badan tidak turun lebih dari 10% selama proses aklimatisasi.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah buah Merah. Hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) jenis Wistar jantan usia 10-12 minggu bulan dengan berat rata-rata 150-200 gram. Bahan untuk pakan tikus menggunakan BR1, Bahan-bahan lain yang digunakan *Streptozotocin* (STZ) yang dilarutkan dalam sodium citrate 0,1 M buffer Ph 6,3, aquadest, etanol 96%, NaCL 0,9%, asam sitrat, NaOH, larutan xanthin, xanthin oksidase, NBT, PBS, aquades, kapas, tissue, alkohol 70%, DMSO.

4.5.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah glassware yang terdiri dari gelas ukur 100 mL, beaker glass 500 mL, Erlenmeyer 250 mL, corong kaca, tabung reaksi 20 mL, pipet ukur 1 mL, 5 mL, 10 mL dan spatula kaca, pisau, blender kering merk, kain saring, kertas saring, rotary evaporator vakum, spektrofotometer, timbangan analitik, tabung reaksi 5 mL, microhematocryte, microtube, pipet mikro, jarum suntik (syringe) merk One med, jarum sonde (force feeding needle), kandang tikus, botol minum tikus, tempat makan tikus, toples plastik ukuran besar dan kecil, jarum, pinset, gunting, sarung tangan, silet, alat pencekok oral (*gavage*), spektrofotometer, *vortex*, *hot plate*, *stirrer*, *Gluco Dr* (Accu Cek), *Strip Gluco Test*, *Blood lancet*, *incubator*, *micropipette*, tube 1ml, spuit 1cc, dan *centrifuge*.

4.6 Prosedur Penelitian

Penelitian ini terbagi atas 4 prosedur penelitian yang meliputi tahap pemuatan hewan model DM, tahap pemberian terapi ekstrak etanol buah merah, tahap pengambilan data, dan tahap analisis data.

4.6.1 Pembuatan Hewan Model DM

4.6.1.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Sebelum dilakukan penelitian, terlebih dahulu mempersiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang meliputi kandang, sekam, tempat makan dan minum tikus, pakan tikus. Hewan coba yang berjumlah 36 ekor selanjutnya diaklimatisasi kandang selama 1 minggu di minggu pertama dengan diberi makan BR1 dan minum secara *ad libitum*.

4.6.1.2 Induksi streptozotocin

Umumnya induksi diabetes dilakukan dengan pemberian streptozotocin dalam 0.15 M NaCl dan 100 mMbuffer sitrat pH 4.5secara intraperitoneal (Nakhaee, 2009). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Arora et.al (2009) dosis tunggal streptozotocin 180 mg/kgBB dapat menginduksi DM tipe I dan dosis streptozotocin 40 mg/kgBB yang diberikan selama 5 hari berturut-turut dapat menyebabkan DM tipe II. Pada penelitian lain juga digunakan dosis tunggal streptozotocin 240 mg/kgBB dapat menginduksi DM tipe I (Nacci et.al, 2009).

Pada penelitian ini digunakan STZ sebanyak 400 mg yang dilarutkan dalam 40 ml sodium citrate 0,1 M buffer Ph 6,3, sehingga 1 ml larutan mengandung 10 mg STZ. Dosis STZ yang digunakan yaitu 80 mg/Kg BB dengan dosis tunggal pada tikus (Adeyemi, 2009). Jika berat tikus rata-rata adalah 200 gram maka dibutuhkan

16 mg STZ untuk setiap ekor tikus. Jika 1 ml larutan mengandung 1 ml STZ, maka induksi memerlukan dosis 1,6 ml larutan.

4.6.1.3 Prosedur Pembuatan Tikus Model Diabetes Mellitus

1. Dipersiapkan hewan uji dengan cara diadaptasi pada kondisi laboratorium tempat penelitian, dilakukan selama 7 hari dan diberi pakan normal dan minum *ad-libitum*, tikus ditempatkan dengan jumlah 1 ekor tiap kandang pada ruangan dengan suhu 22-25⁰C dan siklus terang gelap 12/12 jam. Tikus diberi pakan normal berupa pakan BR1.
2. Hewan uji (kecuali control negatif) diinduksi *streptozotocin* (STZ) secara intraperiotenal dengan dosis 80 mg/kg dalam sodium citrate 0,1 M buffer Ph 6,3. Tikus diposisikan menghadap kearah atas hingga terlihat bagian abdomennya. Pada bagian atas abdomen tikus disemprot dengan ethanol 70%, kemudian kulit dicubit hingga terasa bagian ototnya, jarum dimasukkan pada bagian abdomen dan dicoba digerakkan, apabila terasa berat maka sudah masuk pada daerah intraperitoneal. Setelah yakin pada daerah intraperitoneal, maka STZ segera di masukkan secara perlahan. Selanjutnya abdomen tikus disemprot dengan ethanol 70% kembali.
3. Setelah itu hewan coba di cek kadar glukosa darahnya. Pengukuran Glukosa darah menggunakan alat *Blood Glucose Test Meter GlucoDr (Accu Check)*. Alat diset kodenya sesuai dengan kode GlucoDrTM Test Strip yang digunakan, selanjutnya darah dari ekor tikus ditetaskan pada strip yang terhubung dengan kemudian dibiarkan selama 6 detik dan dibaca skala yang terlihat pada layar, dimana satuan skala pengukuran yang terbaca mg/dl. Sebelum dilakukan pengambilan darah, tikus dipuaskan terlebih dahulu

selama 8 jam, karena kadar glukosa darah yang diukur adalah kadar glukosa darah puasa. Kadar Glukosa darah puasa normal pada tikus adalah 100 mg/dl.

- a. Hewan uji kadar glukosa darah puasa < 127 mg/dl dieksklusi dari populasi sampel.
- b. Hewan uji yang glukosa darah puasanya > 127 mg/dl dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih.

4.6.2 Pemberian Terapi Ekstrak Etanol Buah Merah

4.6.2.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Merah

4.6.2.1.1 Penyiapan Bahan dan Uji Determinasi

Buah Merah diambil dari daerah Papua, kemudian di Uji Determinasi di kebun Raya Purwodadi - LIPI. Uji Determinasi dari suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari Setelah di determinasi, tanaman dicuci dengan air sampai bersih, dirajang kecil-kecil, dikeringkan, kemudian diserbuk dengan blender. Serbuk yang sudah jadi digunakan untuk ekstraksi.

4.6.2.1.2 Ekstraksi Buah Merah

Sebanyak 500 g buah merah dimaserasi dengan 3 L etanol. Campuran dibiarkan selama 2 x 24 jam sambil diaduk sesekali, diletakan di tempat yang terlindung cahaya pada suhu kamar. Cairan hasil maserasi kemudian difiltrasi. Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Ketiga hasil maserasi digabung dan diuapkan pelarutnya

dengan vacuum rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat etanol berwarna coklat kehitaman.

4.6.2.2 Prosedur Pemberian Terapi

4.6.2.2.1 Penentuan Dosis Buah Merah

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan sehingga acuan dosis mengacu pada penelitian sebelumnya mengenai dosis yang memiliki efek antidiabetes dengan mekanisme kerja sebagai antioksidan. Dosis ekstrak etanol buah merah yang digunakan adalah 250 mg/kgBB/hari, 500 mg/kgBB/hari, 1000 mg/kgBB/hari, dan 2000 mg/kgBB/hari. (Anwar, 2015).

Dalam penelitian terdapat 6 kelompok perlakuan meliputi kontrol positif yaitu tikus diabetes yang diberi aquadest, kontrol negatif yaitu tikus sehat yang hanya diberi aquadest, dan 4 kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol buah merah dosis 250 mg/kgBB/hari, 500 mg/kgBB/hari, 1000 mg/kgBB/hari, dan 2000 mg/kgBB/hari.

4.6.2.1.2 Cara Pemberian Terapi Pada Hewan Coba

Ekstrak etanol buah merah dengan dosis berbeda, dilarutkan dengan DMSO diberikan secara oral sebanyak 1 ml tiap tikus setiap hari. Untuk tikus kelompok K(-) dan K(+) hanya diberi aquadest sebanyak 1 ml/tikus setiap hari. Pemberian dilakukan selama selama 15 hari.

4.6.3 Tahap Pengambilan Data

Tikus setelah dilakukan terapi menggunakan ekstrak etanol buah merah selama 15 hari dibedah dan diambil darahnya kemudian diukur kadar enzim superoksida dismutase.

4.6.3.1 Pembuatan Serum Darah

Sebelum pengambilan darah, tikus terlebih dahulu dilakukan pembiusan dengan eter. Kemudian dilakukan insisi vertikal pada regio abdomen wistar menggunakan scalpel. Setelah itu, tulang iga dipatahkan sehingga dapat terlihat jantung wistar. Darah langsung diambil dari aorta sebanyak ± 3 ml dengan spuit dan ditampung dalam tabung reaksi. Setelah didapatkan sampel darah, lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit sampai terbentuk supernatan. Selanjutnya supernatan hasil sentrifuse diambil sebanyak 200 μ l masukan ke dalam tabung sentrifuge yang kosong.

4.6.3.2 Pengukuran Kadar Enzim Superoksida Dismutase

4.6.3.2.1 Pembuatan Larutan Standar SOD

Sebanyak 10 mg SOD standar dilarutkan dengan air bebas ion dalam labu ukur 10 mL dan dinyatakan sebagai larutan standar kerja. Larutan standar kerja ini selanjutnya dibuat pengenceran dengan menggunakan air bebas ion hingga diperoleh konsentrasi: 1, 3, 5, 10, 20 μ g/mL.

4.6.3.2.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Xantine sebanyak 100 μ L, Xantine Oksidase 100 μ L, NBT 100 μ L, PBS 600 μ L dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi (dengan tekanan suhu 30°C selama 30 menit dan disentrifus dengan tekanan 3500 rpm selama 10 menit), setelah itu diambil supernatannya dengan menggunakan mikropipet dan ditambahkan larutan PBS 200 mL. Kemudian dihitung absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 200-800 nm.

4.6.3.3.6 Pembuatan Kurva Standar

Bahan berupa Xantine sebanyak 100 μL , Xantine Oksidase 100 μL , NBT 100 μL , PBS 600 μL dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 100 μL larutan standar masing-masing 1, 3, 5, 10, 20 $\mu\text{g/mL}$ dan divorteks perlahan lahan, lalu diinkubasi (dengan tekanan suhu 30°C selama 30 menit dan disentrifus dengan tekanan 3500 rpm selama 10 menit), kemudian diambil supernatannya dengan menggunakan mikropipet dan ditambahkan larutan PBS 200 mL. Selanjutnya diukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer kemudian digunakan untuk membuat kurva standard SOD.

4.6.3.3.7 Pengukuran Kadar SOD

Adapun tahapan pengukuran Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase adalah sebagai berikut: Bahan berupa Xantine sebanyak 100 μL , Xantine Oksidase 100 μL , NBT 100 μL , PBS 600 μL , kemudian sampel serum darah sebanyak 100 μL dicampur dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi (dengan tekanan suhu 30°C selama 30 menit dan disentrifus dengan tekanan 3500 rpm selama 10 menit), kemudian diambil supernatannya dengan menggunakan mikropipet dan ditambahkan larutan PBS 200 mL. Kemudian diletakkan di dalam kuvet. Jumlah chromogen yang terbentuk diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

4.6.4 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah merah terhadap kadar superoksida dismutase (SOD) tikus wistar jantan diabetes mellitus, data yang diperoleh akan dianalisis terlebih dahulu dengan uji prasyarat, yaitu uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov (K-S) dan uji homogenitas Levene. Bila data sudah homogen dan terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Jika hasil uji Anova menunjukkan perbedaan yang signifikan pada data parametrik, maka dilanjutkan dengan uji lanjut LSD (*Least Significant Difference*).



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Persiapan Sampel

Pada penelitian ini digunakan buah merah yang berasal dari Papua. Buah merah diuji determinasi terlebih dahulu di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi-LIPI dengan tujuan untuk mendapatkan suatu spesies buah merah sespesifik mungkin dan tepat sasaran. Berdasarkan hasil identifikasi menunjukkan bahwa buah merah yang digunakan merupakan tanaman buah merah dengan nama spesies *Pandanus conoideus* Lamk. Setelah diidentifikasi buah merah segar dipisahkan dari jantung atau empulurnya kemudian daging buah merah yang menempel pada bagian luar bijinya diambil. Daging buah merah dicuci, dirajang kecil-kecil, dikeringkan menggunakan oven, kemudian diserbuk dengan blender. Serbuk selanjutnya digunakan untuk proses ekstraksi.

Ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 500 g serbuk buah merah dimaserasi menggunakan suhu ruang dengan 3 liter etanol 96% dengan pengulangan maserasi sebanyak 3 kali atau remaserasi (1 liter etanol dengan 3 kali pengulangan). Etanol digunakan sebagai pelarut karena selektif hanya menarik zat yang dikehendaki yang larut dalam pelarut polar, selain itu kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, pelarut yang ideal, tidak beracun, netral dan absorpsinya baik. Etanol juga merupakan pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti flavonoid (Wibudi, 2006). Campuran dibiarkan selama 2x24 jam sambil di aduk sesekali untuk membantu mempercepat proses distribusi solven ke dalam jaringan

tanaman sehingga senyawa yang terkandung dalam jaringan tanaman dapat terekstrak dengan sempurna. Cairan hasil maserasi kemudian difiltrasi dan dilakukan pengulangan maserasi sebanyak 3 kali (2x24 jam) yang bertujuan untuk meminimalkan golongan senyawa tanaman yang tertinggal kemudian ketiga hasil maserasi digabung. Untuk memperoleh ekstrak kental, filtrat dipisahkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasilnya diperoleh ekstrak kental berminyak berwarna merah kehitaman sebanyak 132 g dengan rendemen 26,59%.

Setelah didapatkan ekstrak tahap selanjutnya adalah pembuatan hewan coba model diabetes mellitus. Dalam penelitian ini tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar digunakan sebagai hewan coba model diabetes mellitus yang dilakukan dengan pemberian streptozotocin dosis tunggal 80 mg/kgBB secara intraperitoneal dan bertujuan untuk mengukur pengaruhnya pada kadar enzim superoksida dismutase. Pemilihan tikus putih galur wistar dalam penelitian ini didasarkan pada pertimbangan bahwa tikus putih galur wistar atau *Rattus norvegicus* L. yang dibiakkan dalam laboratorium memiliki kecenderungan lebih tenang dan jarang berkelahi. Hal ini membuat tikus putih galur wistar mudah ditangani dan kemungkinan *drop out* karena kematian lebih jarang (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Tikus yang digunakan berumur sekitar 10-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram, dan dalam kondisi fisik yang sehat. Keseluruhan jumlah tikus dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus dengan pembagian 6 kelompok secara acak. Setelah diaklimatisasi, hewan uji (kecuali kontrol negatif) diinduksi *streptozotocin* (STZ) secara intraperitoneal dengan dosis 80 mg/kg dalam larutan buffer sitrat.

Setelah itu dilakukan uji kadar glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pengambilan darah melalui ekor yang menggunakan alat glucometer.

Berdasarkan hasil penelitian uji kadar glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) menunjukkan hasil data pengukuran yang berbeda-beda. Kenaikan kadar glukosa sesuai dengan yang telah dikemukakan oleh Adeyemi (2009) bahwa pemberian STZ dosis tunggal pada tikus sebesar 80 mg/kgBB dalam waktu 2-4 hari dapat menginduksi terjadinya diabetes mellitus tipe 2. Pada penelitian ini digunakan STZ untuk meningkatkan kadar glukosa darah karena selektif merusak sel beta pankreas (Pathak et al., 2008). Streptozotocin bekerja langsung pada sel beta pankreas, dengan aksi sitotoksiknya dimediasi oleh *reactive oxygen species* (ROS) dan akan menyebabkan alkilasi DNA (Elsner et al., 2000). Kerusakan DNA tersebut nantinya akan mengaktifkan poli ADP ribosilasi. Proses ini akan mengakibatkan penghabisan nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) seluler, lebih lanjut akan terjadi pengurangan ATP dan akhirnya akan menghambat sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001). Penurunan cadangan energi selular ini diduga turut menyebabkan terjadinya nekrosis sel beta pankreas (Lenzen, 2008).

Selanjutnya tikus (*Rattus norvegicus*) yang telah diinduksi STZ kemudian diberikan terapi dengan ekstrak Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah sesudah diinduksi streptozotocin pada perlakuan hari ke-15 dan dilanjutkan dengan pengukuran kadar enzim superoksida dismutase pada serum darah tikus (*Rattus norvegicus*).

5.2 Peningkatan Kadar Enzim Superoksida Dismutase Tikus Wistar Jantan Diabetes Mellitus Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)

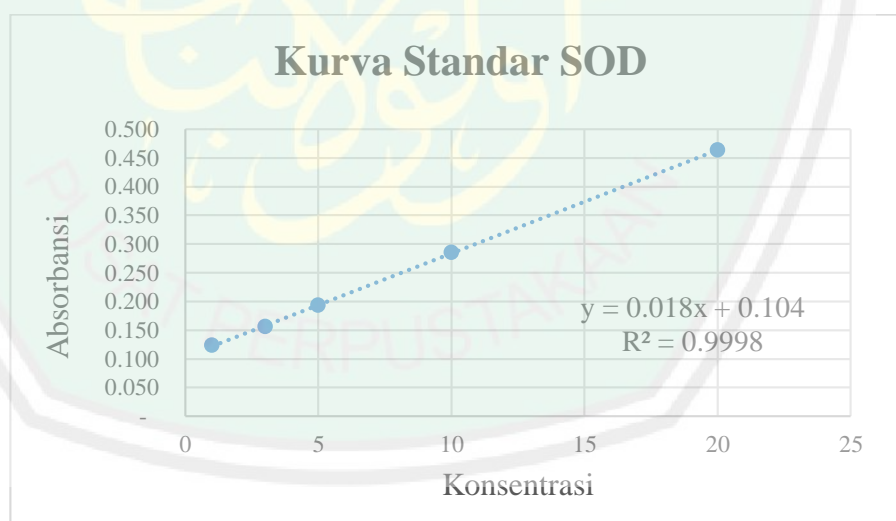
Superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan yang merubah dismutase anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Analisis kadar SOD dapat dilakukan dengan xantin dan xantin oksidase sebagai penghasil superoksida, kemudian diamati dengan spektrofotometer (Sugito, 2012). Analisis kadar SOD pada penelitian ini terdiri dari 3 tahap, di antaranya adalah penentuan panjang gelombang maksimum, pembuatan kurva standar, dan pengukuran kadar SOD sampel serum darah tikus.

Tahap penentuan panjang gelombang maksimum atau λ_{maks} dimaksudkan untuk mengetahui absorbansi maksimum pada kisaran panjang gelombang 500 – 650 nm. Menurut Gandjar dan Rohman (2007) panjang gelombang maksimum dapat memberikan kepekaan maksimum, hal ini dikarenakan pada panjang gelombang maksimum tersebut perubahan absorbansi untuk setiap konsentrasi adalah yang paling besar. Pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi dan apabila dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali. Hasil pengukuran dengan Spektrofotometer UV-Vis menunjukkan λ_{maks} pada penelitian ini sebesar 580 nm.

Selanjutnya yaitu pembuatan kurva standar SOD yang diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah ditemukan, yaitu 580 nm. Kurva standar dibuat dengan memplotkan absorbansi sebagai ordinat (sumbu Y) dan konsentrasi SOD sebagai absis (sumbu X). Absorbansi larutan standar yang diukur diplotkan terhadap

konsentrasinya sehingga diperoleh garis lurus berupa grafik. Grafik ini disebut plot hukum Lambert-Beer, dan jika garis yang dihasilkan merupakan suatu garis lurus maka dapat dikatakan bahwa Lambert-Beer terpenuhi pada kisaran konsentrasi yang diamati.

Dalam penelitian ini sebelumnya dibuat larutan standar terlebih dahulu. Larutan standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah bovin eritrosit. Tujuannya adalah untuk membuat kurva kalibrasi yang akan digunakan untuk menghitung kadar enzim superoksida dismutase. Larutan standar dibuat dalam konsentrasi 1, 3, 5, 10, 20 $\mu\text{g/mL}$ yang selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer. Hasil dari absorbansi larutan kemudian dibuat kurva konsentrasi vs absorbansi sehingga didapatkan persamaan garis $y = 0.018x + 0.104$. Adapun kurva larutan standar superoksida dismutase dapat dilihat secara rinci pada Gambar 5.2. dibawah ini:



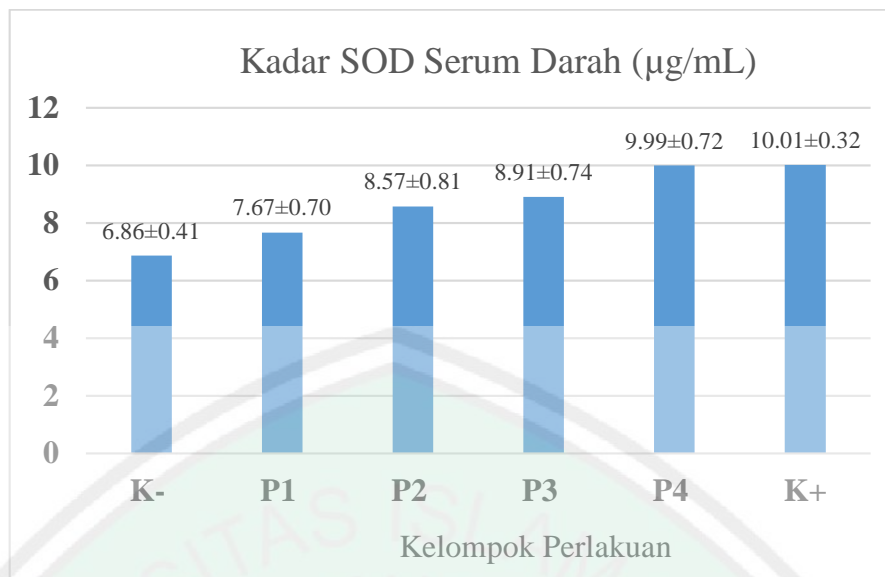
Gambar 5.2. Kurva Standar Superoksida Dismutase.

Dari gambar diatas, terlihat bahwa semakin besar konsentrasi suatu larutan, semakin besar pula nilai adsorbansinya, sehingga kurva yang dihasilkan yaitu linear dengan persamaan $y = 0.018x + 0.104$.

Selanjutnya SOD diukur pada panjang gelombang 560 nm melalui derajat penghambatan (inhibisi) pembentukan zat warna. Aktivitas enzim SOD dapat dinilai berdasarkan kemampuannya menghambat reaksi yang dikatalisi oleh radikal superoksida, seperti menghambat reduksi sitokrom C dan nitro blue tetrazolium (NBT). Kadar enzim superoksida dismutase dapat diketahui dari adsorbansinya, dengan menghitung x dari persamaan linear kurva standar dengan y adalah adsorbansi larutan sampel: $y = ax + b$. Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol buah merah dosis 250, 500, 1000, 2000 mg/kgBB serta kontrol positif dan negatif terhadap kadar enzim superoksida dismutase pada serum darah tikus wistar jantan, rata-rata kadar enzim superoksida dismutase dapat dilihat pada tabel 5.2. dibawah ini:

Tabel 5.2. Hasil Rata-Rata Kadar SOD Serum Darah Tikus

Kelompok Perlakuan	Rerata Kadar SOD ($\mu\text{g/mL}$)	Rerata Absorbansi
K+ (kontrol positif)	6.858 \pm 0.41	0.228
P1 (dosis 250 mg/kgBB)	7.664 \pm 0.70	0.243
P2 (dosis 500 mg/kgBB)	8.567 \pm 0.81	0.259
P3 (dosis 1000 mg/kgBB)	8.914 \pm 0.74	0.265
P4 (dosis 2000 mg/kgBB)	9.997 \pm 0.72	0.285
K- (kontrol negatif)	10.011 \pm 0.32	0.285



Gambar 5.2.2. Hasil Kadar Superoksida Dismutase.

Keterangan:

- (K+) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) dengan dosis 80 mg/Kg BB dan dengan pemberian aquades.
- (K-) = tikus (pembanding) tanpa perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) dan tanpa pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.), dan dengan pemberian aquades.
- (P1) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 80 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dosis 250 mg/Kg BB per hari.
- (P2) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 80 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dosis 500 mg/Kg BB per hari.
- (P3) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 80 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dosis 1000 mg/Kg BB per hari.
- (P4) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 80 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dosis 2000 mg/Kg BB per hari.

Kadar enzim superoksida dismutase rata-rata pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) pada kelompok kontrol positif atau tikus diabetes mellitus dengan injeksi streptozotocin dan pemberian aquades yaitu 6.858 µg/mL. Hal ini mengalami perbedaan kadar SOD dengan kelompok kontrol negatif atau tikus normal sebesar 10.011 µg/mL, seperti yang terlihat pada gambar 5.2.

Peningkatan kadar glukosa pada kelompok positif atau tikus diabetes mellitus yang di injeksi STZ dapat meningkatkan proton mitokondria karena terlalu banyak donor elektron melalui siklus asam trikarboksilat sehingga meningkatkan kadar ROS dan kegagalan pengeluaran insulin dari sel β pankreas (Robertson, 2004).

Superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu antioksidan endogen yang amat berperan dalam mengkatalisasi radikal bebas anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga dapat meredam stres oksidatif, sehingga dapat melindungi sel-sel beta pankreas (Mates *et al.*, 1999 ; Arkhesi, 2008).

Kadar SOD yang menurun menunjukkan terjadinya stres oksidatif yang disebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas (Harjanto, 2003). Kadar SOD yang rendah pada kontrol positif menunjukkan tingginya stres oksidatif yang terjadi pada tikus diabetes tanpa terapi. Hal ini disebabkan penyakit diabetes mellitus meningkatkan *Reactive Oxygenated Species* (ROS) sehingga memperparah terjadinya stres oksidatif. Stress oksidatif menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem pembentukan dan penangkapan radikal bebas sehingga menurunkan aktivitas antioksidan, termasuk antioksidan enzimatik seperti SOD (Kaleem *et.al*, 2006; Pari dan Latha, 2002).

Kadar ROS di dalam tubuh pada kondisi fisiologi normal diseimbangkan oleh aktivitas antioksidan enzimatik, satu diantaranya yaitu Superoksida dismutase (SOD) (Turrens *et al.*, 1980). Hal ini seperti yang terlihat pada kontrol negatif atau kelompok tikus normal. SOD pada perlakuan kontrol negatif dapat melakukan perannya secara normal yaitu mengkatalisis dismutasi O_2^- menjadi H_2O_2 . H_2O_2

selanjutnya didekomposisi menjadi H_2O dan O_2 , hal ini menyebabkan SOD menjadi satu diantara indikator yang digunakan untuk mengetahui pembentukan senyawa radikal atau reaksi antara senyawa radikal atau oksida lain dengan molekul tubuh (Wresdiyati, 2006).

Pada kelompok hewan coba yang diberikan terapi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) mengalami peningkatan kadar SOD dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Kadar SOD pada kelompok pemberian ekstrak etanol buah merah masing-masing dosis 250 mg/KgBB 7.664 $\mu\text{g/mL}$, dosis 500 mg/KgBB 8.567 $\mu\text{g/mL}$, dosis 1000 mg/KgBB 8.914 $\mu\text{g/mL}$, dosis 2000 mg/KgBB 9.997 $\mu\text{g/mL}$, hasil tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan seiring dengan meningkatnya dosis. Dari hasil tersebut diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol buah merah dengan dosis yang meningkat menghasilkan perbaikan kadar enzim superoksida dismutase pada tikus diabetes mellitus.

Peningkatan kadar SOD pada perlakuan terapi ekstrak etanol buah merah disebabkan zat bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol buah merah. Ekstrak etanol buah merah mengandung golongan senyawa asam lemak, steroid/terpenoid, karotenoid, minyak atsiri, glikosida jantung, antrakuinon; flavonoid dan kumarin. Apabila diperhatikan golongan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak etanol buah merah tersebut sebagian besar merupakan komponen senyawa antioksidan (Marliyana, 2009). Adapun senyawa antioksidan yang diduga memiliki aktivitas antidiabetes pada ekstrak etanol buah merah yaitu flavonoid (Marliyana, 2009).

Flavonoid berperan sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah komplikasi atau progresifitas DM dengan cara membersihkan radikal bebas yang berlebih, memutuskan rantai radikal bebas (Soewonto, 2001). Flavonoid

menghambat enzim yang bertanggung jawab pada produksi radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$) seperti xantin oksidase, protein kinase C. Superoksida dismutase (SOD) berfungsi mendismutase radikal $O_2^{\cdot-}$ dengan cara mengubah $O_2^{\cdot-}$ menjadi H_2O_2 yang bersifat bukan radikal bebas (Constantino et al., 1992). sehingga kadar enzim superoksida dismutase di dalam sel dapat dipertahankan.

Pengaruh pemberian antioksidan terhadap tikus diabetes juga terlihat pada penelitian Naziroglu et. al (2011) dimana dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian tanaman acai, yaitu suatu tanaman yang mengandung antioksidan, terhadap tikus diabetes yang diinduksi STZ dapat menaikkan tingkat mRNA dari *gamma-glutamylcysteinsynthetase* di jaringan serta menurunkan produksi ROS. Penurunan ROS menyebabkan terjadinya peningkatan SOD.

Data yang diperoleh dari penghitungan kadar enzim SOD pada serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus Lamk.*) dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Dari uji tersebut menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Berdasarkan data rata-rata pengukuran kadar SOD pada serum darah tikus DM dengan pemberian ekstrak etanol buah merah Papua setelah diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* Test diperoleh signifikansi > 0.05 ($0.917 > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas dengan uji Homogenitas Levene. Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi > 0.05 ($0.411 > 0.05$). Hal ini menunjukkan data yang diperoleh telah homogen. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji ANOVA One-Way menunjukkan nilai signifikansi < 0.05 ($0.00 < 0.05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah merah secara signifikan dapat mempengaruhi kadar SOD pada serum darah tikus DM, seperti yang ditunjukkan pada gambar 5.3. Setelah dilakukan uji ANOVA One-Way selanjutnya dilakukan uji LSD (Least Significant Difference) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar SOD serum darah.

5.3 Pengaruh Variasi Dosis Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Terhadap Kadar Enzim Superoksida Dismutase Tikus Diabetes Mellitus

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi dosis pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) sebagai obat antidiabetes terhadap kadar SOD yang terdapat dalam serum darah tikus wistar jantan. Perlakuan dilakukan dengan pemberian ekstrak secara oral dengan empat dosis berbeda yakni dosis 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB, 1000 mg/Kg BB, dan 2000 mg/Kg BB dibandingkan dengan kontrol positif atau tikus DM tanpa terapi dan kontrol negatif atau tikus sehat. Hasil rata-rata kadar SOD pada tikus wistar jantan diabetes mellitus pada kontrol perlakuan dikurangi dengan hasil rata-rata kadar SOD pada kontrol positif sehingga didapatkan selisih variasi dosis yang kemudian dihitung persentase peningkatan kadar enzim superoksida dismutase. Lebih rinci dapat dilihat pada tabel 5.3. dibawah ini:

Tabel 5.3. Hasil Persentase Kenaikan Kadar SOD Serum Darah Tikus

Kelompok Perlakuan	Rata-rata	Selisih Rerata (Kontrol perlakuan-Positif)	Persentase Peningkatan
K+ (kontrol tikus DM tanpa terapi)	6.858	0	0%
P1 (dosis 250 mg/kgBB)	7.664	0.81	11.81%
P2 (dosis 500 mg/kgBB)	8.567	1.709	24.91%
P3 (dosis 1000 mg/kgBB)	8.914	2.056	29.97%
P4 (dosis 2000 mg/kgBB)	9.997	3.319	48.39%



Gambar 5.3. Kurva nilai selisih rata-rata kenaikan kadar SOD pada serum darah tikus DM setelah pemberian terapi ekstrak etanol buah merah dibandingkan dengan kontrol positif atau tikus DM tanpa perlakuan.

Hasil uji lanjut LSD menunjukkan perbedaan peningkatan kadar enzim superoksida dismutase yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan

kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan ekstrak etanol buah merah dosis 250, 500, 1000 dan 2000 mg/kgBB ($P < 0,05$). Peningkatan kadar SOD sejalan dengan peningkatan dosis yang diberikan seperti yang terlihat pada gambar 5.3. Kadar SOD pada perlakuan 4 (dosis 2000 mg/kgBB) lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan 3 (dosis 1000 mg/kgBB), lalu pada uji LSD menunjukkan perbedaan secara nyata diantara perlakuan terapi. Hal ini seperti yang ditunjukkan pada tabel 5.3.

Hasil uji statistik memperlihatkan bahwa kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok ekstrak etanol buah merah dosis 250 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai $P > 0,05$. Ini berarti ekstrak etanol buah merah dosis 250 mg/kgBB setara dengan kelompok kontrol positif atau tikus diabetes tanpa terapi ekstrak etanol buah merah dalam kenaikan kadar SOD. Sedangkan pada kelompok perlakuan dosis 500, 1000, dan 2000 mg/kgBB memiliki perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan telah terjadi proses perbaikan stres oksidatif pada tikus DM akibat pemberian ekstrak etanol buah merah dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB meningkatkan kadar SOD serum darah tikus yang diinduksi STZ.

Kadar SOD tertinggi yaitu pada perlakuan 4 (dosis 2000 mg/kgBB) dan menunjukkan bahwa dosis yang hasilnya paling baik dalam pemberian ekstrak etanol buah merah untuk meningkatkan kadar SOD yaitu perlakuan 4 (dosis 2000 mg/kgBB). Akan tetapi dari hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah merah dengan dosis 250 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menaikkan kadar SOD di serum darah tikus.

Penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu 15 hari dalam bentuk pemberian ekstrak etanol buah merah terhadap tikus DM jangka pendek untuk meningkatkan kadar SOD dengan cepat. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai efek pemberian ekstrak etanol buah merah dosis 2000 mg/kgBB untuk mengetahui apakah ekstrak pada dosis tersebut dengan masa terapi lebih dari 15 hari memiliki efek hipoglikemik atau tidak. Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut dalam jangka waktu yang lebih lama mengenai efek antidiabetes terhadap peningkatan SOD sebagai tindakan kuratif.

Setiap obat memiliki dosis efektif dalam penggunaannya sehingga dapat melakukan fungsinya secara optimal, sebagaimana dikaji dalam Quran Surat AlQamar (54):49

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ (٤٩)

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”.

Dalam tafsir Ath-Thabari (2010), ayat ini mencakup semua makhluk, dan alam bagian atas maupun bagian bawah. Dia menciptakannya dengan qadha’ (qadar) yang telah diketahui-Nya, tertulis oleh pena-Nya, demikian pula sifat-sifat yang ada padanya, dan bahwa yang demikian itu mudah bagi Allah. Berdasarkan ayat ini dijelaskan bahwa sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu menurut ukuran yang sesuai dengan hikmah (Shihab, 2002). Ukuran yang sesuai dengan hikmah juga dapat diartikan sebagai dosis yang sesuai menurut Allah SWT. Dosis yang sesuai menurut Allah SWT juga dapat berarti dosis yang tidak berlebihan atau sesuai dengan ukuran. Dosis yang paling memberikan efek pada penelitian ini yaitu dosis 2000 mg/kgBB. Hal ini ditunjukkan dengan hasil uji statistik yang menyatakan bahwa dosis pemberian ekstrak etanol buah merah

(*Pandanus conoideus* Lamk.) sebesar 2000 mg/kgBB telah berpengaruh secara nyata dalam menaikkan kadar SOD jika dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah pada penelitian ini.

Semua penyakit pada dasarnya berasal dari Allah SWT, maka yang dapat menyembuhkan juga Allah SWT semata, akan tetapi untuk mencapai kesembuhan tersebut tentunya dengan melakukan usaha yang diridhai Allah SWT (Al-Jauziyah, 2008). Satu diantara usaha tersebut yaitu mencari obat dengan dosis yang sesuai. Obat dengan dosis yang sesuai pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang dapat meningkatkan kadar enzim superoksida dismutase.



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) dapat meningkatkan kadar enzim superoksida dismutase tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) diabetes mellitus.
2. Dosis yang hasilnya paling baik dalam pemberian ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) yang optimal untuk meningkatkan kadar enzim superoksida dismutase tikus (*Rattus norvegicus* L.) model diabetes mellitus yaitu dosis 2000 mg/kgBB.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut apakah ekstrak pada dosis 2000 mg/kgBB dengan masa terapi lebih dari 15 hari memiliki efek hipoglikemik atau tidak.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeyemi. 2009. Antihyperglycemic Activities of *Annona muricata* (linn). *Afr. J. Trad. CAM* 6: 62-69.
- Aini, 2007. Efek Hipoglikemik Ekstrak Petroleum Eter Buah Merah (*Pandanus Conoideus* Lam.) Pada Kelinci New Zealand Jantan Yang Dibebeani Glukosa. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta Surakarta.
- Akbarzadeh A., Norouzian D., Mehrabi M.R., Jamshidi Sh., Farhangi A., Allah Verdi A., Mofidian1 S.M.A. and B. Lame Rad. (2007). Induction Of Diabetes By Streptozotocin In Rats. *Indian Journal Of Clinical Biochemistry*. 22 (2).
- Alfarisi, Salman. 2012. Perbedaan Kadar Kreatinin Serum Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 yang Terkontrol Dengan Yang Tidak Terkontrol Di Rsud Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung Tahun 2012. *Majority (Medical Journal of Lampung University)*.
- Algameta, Elfara Diaz. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Tablet Everescent Dewandaru (*Eugenia unifolia* L.) dan Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) pada Tikus yang Dibebeani Glukosa. *Skripsi*. Solo: UMS.
- Al-Jauziyah, Ibnu Qayyim. 2008. *Praktek Kedokteran Nabi SAW*. Yogyakarta: Hikam Pustaka Abdollahi.
- Al-Maraghi, Musthafa. Ahmad. 1989. *Tafsir Al-Maraghi, juz 22*. Semarang: CV Toha Putra.
- Al-Qarni, A. 2008. *Tafsir Muyassar Jilid 3*. Jakarta: Qisthi Press
- American Diabetes Association. 2015. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 38:8-16.
- Ansel, H.C., (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi 4. UI Press. Jakarta. Halaman 96,147.
- Anwar, Khoirul. 2015. Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Etanol Buah Mengkudu Pada Tikus Yang Diinduksi Streptozotocin. *Procidng seminar nasional dan workshop* “perkembangan terkini science farmasi dan klinik 5”.
- Arkhaesi, N. 2008. Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Sebagai Indikator Prognosis Keluaran Pada Sepsis Neonatorum. *Jurnal Penelitian Program*

Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik Dan Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Kesehatan Anak Universitas Diponegoro, Semarang. Hal 10-12

- Arora S, Ojha SK and Vohora D. 2009. Characterisation of Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus in Swiss Albino Mice. *Global J. Pharmacol* 3 (2): 81-84.
- Arulselvan, S., Perumal Pillai, E.B., Subramanian, K. and Santhakumar, A.R. 2006. "Strength Behaviour in Brick Joints". *Proceedings of National Conference on 2006 Coimbatore Institute of Technology*.
- Arulselvan, S., Perumal Pillai, E.B., Subramanian, K. and Santhakumar, A.R. 2006. "Strength Behaviour in Brick Joints". *Proceedings of National Conference on 2006 Coimbatore Institute of Technology*.
- Asy-Syanqithi, Syaikh. 2007. *Tafsir Adhawa 'ul bayan*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Ath Thabari, Imam Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2010. *Jamiul Bayan an Ta'wil Ayi Al Qur'an Tafsir Ath Thabari: Jilid 24*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Bare, dan Smeltzer, Suzanne C., Brenda G. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner dan Suddarth* (Ed.8, Vol. 1,2). Alih bahasa oleh Agung Waluyo...(et al.). Jakarta: EGC.
- Beckman, K.B., and Ames, B.N. 1998. The Free Radicals Theory of Aging Matures. *Physiology Reviews*. 1998 Apr;78(2):547 – 81.
- Botutihe. 2010. Efek Ekstak Rumput Laut Coklat (*Sargasum duplicatum* Bory) Terhadap Profil Radikal Bebas dan Protein Kinase C Paru Tikus (*Rattus novogicus*) yang Dipapar Benzo piren. *Tesis*. Universitas Brawijaya. Malang
- Brahmachari, G., 2011, Bio- Flavonoids With Promising Antidiabetic Potentials: A Critical Survey, *Research Signpost*, 187-212.
- Brioukhanov, A.L., Netrusov, A.I. 2004. Catalase and Superoxide Dismutase: Distribution, Properties, and Physiological Role in Cells of Strict Anaerobes. *Biochemistry*, Vol 69 (9): 949-62.
- Budi, I made. Fendy R. Paimin. 2005. *Buah merah*. Jakarta: Penebar Swadaya. hal.7, 20 – 26, 43 – 50.
- Cadenas, E., Packer, L. 2002. Expanded Caffeic Acid and Related Antioxidant Compound: Biochemical and Cellular Effects. *Handbook of Antioxidants*. Second edition. California : Marcel Dekker, Inc. p. 279-303.
- Chauhan, V.S., Chauhan, R.S., Devikar, N., Vibhute, A., dan More, S. 2012. Gingival and Periodontal Disease in Children and Adolescents. *Dental Allied Sciences*. 1(1):26-29.
- Chung, S. K. 2003. Contribution of Polyol Pathways to Diabetes Induced Oxidative Stress. *J. Am. Soc. Nephrol*.

- Constantino, L., A. Albasini, G. Rastelli, S. Benvenuti. 1992. *Activity of Polyphenolic Crude Extracts as Scavengers of Superoxide Radicals and Inhibitors of Xanthine Oxidase*. *Planta Med.* 58 : 342 – 344.
- Corwin, J. Elizabeth. 2001. *Patofisiologi*. Jakarta: EGC
- Cossarizza A, Ferraresi R, Troiano L, Rosi E, Gibellini L, Bertoncelli L, Nasi M, Pinti M. Simultaneous Analysis of Reactive Oxygen Species and Reduced Glutathione Content in Living Cells by Polychromatic Flowcytometry. 2009. *Nat protoc.* Vol 4.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan 1979; 605,1061-1063
- Dheer, R. and Bhatnagar, P. 2010. A study of the antidiabetic activity of *Barleria prionitis* Linn. *Indian J. Pharmacol.* 42: 70–73. Dias, A.S., Porwski, M., Alonso, M.
- Ditjen Bina Farmasi dan Alkes. (2005). *Pharmaceutical Care untuk penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 9, 29, 30, 32, 39, 43
- Elin Yulinah Sekandar, Suwendar, I Ketut Adnyana. 2005. Uji Aktivitas Antiinflamasi minyak buah merah (*Pandanus conoideus* lam.) pada tikus Wistar betina. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. XXX. No. 3.
- Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, and Lenzen S. 2000. Relative Importance of Transport and Alkylation for Pancreatic Beta-cell Toxicity of Streptozotocin. *Diabetologia.* 43:1528-33.
- Farris, E.J. dan Griffith, J.Q. 1962. *The rat in the laboratory investigation (2nd. Ed.)*. hafner publishing Company. New York.
- Finaud, J., Lac, G. Filaire, E. 2006. Oxidative Stress : Relationship with Exercise and Training. *Sport Medicine*. Volume 36 No. 4 p : 327 – 358.
- Fridovich I. 1975. Superoxide Dismutases. *Ann Rev Biochem.* 44:147-159.
- Ganong WF. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-14. Jakarta : EGC.
- Garcez M, Bordin D, Peres W, Salvador M. 2004. Free Radicals and Reactive Species. In: Ulbra, editor. *Free Radicals and The Cellular Response To The Oxidative Stress*. Canoas: Porto Alegre; 2004. Pp. 13 – 34.
- Gatiningsih, 2010. Efek Hipoglikemik Ekstrak Kloroform Buah Merah (*Pandanus Conoideus* Lam.) Pada Kelinci New Zealand Jantan Yang Dibebani Glukosa. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta Surakarta.
- Ghozali, Imam. 2009. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS*. Semarang : UNDIP.
- Google.com. 2016. Diakses pada tanggal 29 Desember 2016

- Hadad, M., Atekan, A. Malik, dan D. Wamaer. 2006. Karakteristik dan potensial tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) di Papua. hlm. 243–255. *Prosiding Seminar Nasional BPTP Papua*, Jayapura 24–25 Juli 2006. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian, Bogor.
- Hadad, M., T. Sugandi, D. Wamaer, M. Ondikleu, dan P. Ramba. 2005. *Laporan Eksplorasi Tanaman Buah Merah di Papua*. Kerja Sama Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat dengan Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Papua.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine 3rd ed*. New York: Oxford University Press.
- Halliwell, B. 2006. Reactive Species and Anti-oxidants: Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiol*.
- Harjanto, 2003. Petanda biologis dan faktor yang mempengaruhi derajat stres oksidatif pada latihan olahraga aerobik sesaat. *Disertasi*. Surabaya. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga.
- Harmita, APT. *Analisa Fisikokimia*. Jakarta: UI Press. 2006;17,144-152.
- Hawari, Dadang. 2008. *Al-Qur'an: Ilmu Kedokteran Jiwa Dan Kesehatan Jiwa*. Yogyakarta: Dana Bhakti Prima Yasa
- Held, Paul. 2015. An Introduction to Reactive Oxygen Species, Measurement of ROS in Cells. *Biotek*.
- IDF, 2014, IDF Diabetes Atlas, <http://www.idf.org/atlasmap/atlasmap>, 23 Desember 2016.
- International Diabetes Federation (IDF). 2012. Global Guideline for Type 2 Diabetes. Jurnal online [diunduh 6 Desember 2016]. Tersedia dari: <http://www.idf.org>. International Diabetes Federation (IDF). 2016.
- Jeremia Limbonga, Afrizal Malik 2009. *Peluang pengembangan buah merah (Pandanus conoideus Lamk.) di Provinsi Papua*, Penelitian, Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Papua, viewed 24 Oktober 2014.
- Kaleem, M. 2006. *Antidiabetic and Antioxidant Activity of Annona squamosa Extract in Streptozotocin-induced Diabetic Rats*. Aligarh: Aligarh Muslim.
- Kaleem, M. 2006. *Antidiabetic and Antioxidant Activity of Annona squamosa Extract in Streptozotocin-induced Diabetic Rats*. Aligarh: Aligarh Muslim.
- Kroon, L.A., Assemi, M. dan Carlisl, B.A. (2009). Chapter 50. *Diabetes Mellitus*. Dalam: Koda-Kimble, Mary Anne, Young, Lloyd Yee, Alldredge, Brian K., Corelli, Robin L., Guglielmo, B. Joseph, Kradjan, Wayne A.,

- Williams, Bradley R. *Applied Therapeutics: The Clinical Use Of Drugs*. Edisi ke Sembilan. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. Halaman 48.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Laurence and Bacharach. 1964. *Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics*. cit: Ngatidjan. 1990. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. reviewer: Hakim, L. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51:216-26.
- Lugasi, A., J. Hovari, K.V. Sagi and L. Biro. The Role of Antioxidant Phytonutrients In The Prevention of Disease. *Acta Biologica Szegediensis*. 2003; 47: 119-125
- Machmud Yahya, Bernard T. W. W. 2005. *Khasiat dan manfaat buah merah: si emas dari papua*. Dalam: Mulyono ed. Cetakan III. Jakarta: PT. AgroMedia Pustaka. hal 1-34.
- Malole, M.B.M. and Pramono, C.S.U. 1989. *Pengantar Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- Marliyana. 2009. Penentuan Kandungan kimia dan uji aktivitas ekstrak etanol buah merah (*Pandanus Conoideus Lam.*) sebagai Antikanker : *laporan penelitian*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Mates JM, Gomez CP, Castro IN. 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clin Biochem*. 32(8):595-603.
- Moeljoprawiro, S., T.R. Nuringtyas, R. Noveriza, dan O. Trisilawati. 2007. Kajian Bioaktif Antikanker 3 Varietas Buah Merah: Identifikasi fraksi bioaktif antikanker payudara dan kanker rahim dan mikrobia kontaminan pada 3 varietas buah merah (*Pandanus conoideus Lamk.*). *Laporan Hasil Penelitian Kerja Sama Universitas Gadjah Mada dengan Badan Litbang Pertanian*. 61 hlm.
- Murray, R.K., Mays P.A., Garnar D.K., Rodwell V.W. 1992. *Biokimia*. Jakarta: EGC.
- Nacci C, Tarquinio M, De Benedictis L, Mauro A, Zigrino A and Carratu` MR, Quon MJ. 2009. Endothelial Dysfunction in Mice with Streptozotocininduced Type 1 Diabetes Is Opposed by Compensatory Overexpression of Cyclooxygenase-2 in the Vasculature. *Endocrinology* 150(2):849–861.

- Nainggolan, D. 2001. Aspek Ekologis Kultivar Buah Merah Panjang (*Pandanus conoideus* Lamk.) di Daerah Dataran Rendah Manokwari. *Skripsi Fakultas Kehutanan, Universitas Negeri Papua, Manokwari.*
- Naziroglu, M.; Butterworth, P.J.; Sonmez, T.T. 2011. Dietary vitamin C and E modulates antioxidant levels in blood, brain, liver, muscle, and testes in diabetic aged rats.. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* Vol 81. 347–357.
- Nishimura CY, 1998. Aldose Reductase in Glucose Toxicity: A Potential Targets for There Vention of Diabetic Complications. *Pharmacological Reviews.* 1998;50 (1):21-33.
- Nurdiana N P., Setyawati dan M. Ali. 1998. Efek Streptozotocin Sebagai Bahan Diabetogenik Pada Tikus Wistar Dengan Cara Pemberian Intraperitoneal Dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw.* Vol XIV, no 2. hal 66-77.
- Nuttal SL, Dunne F, Kendal MJ, Martin U. 1999. Age-independent Oxidative Stress in Elderly Patiens with Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *Q J Med.*;92:33-8.
- Okuno, S., Saito, A., Hayashi, T., Ferand-Drake, M., CChan, P.H., 2003, "Overexpression of Copper/Zinc Superoxide Dismutase in Transgenic Mice Protects against Neuronal Cell Death after Transient Focal Ischemia by Blocking Activation of the Bad Cell Death Signaling Pathway", *The Journal of Neuroscience*, 23(5), hal. 1710–1718.
- Pari L, Latha M. 2002. Effect of Cassia Auriculata Flowers on Blood Sugar Levels, Serum and Tissue Lipids in Streptozotocin Diabetic Rats. *Singapore Med Journal.*
- Pari L, Latha M. 2002. Effect of Cassia Auriculata Flowers on Blood Sugar Levels, Serum and Tissue Lipids in Streptozotocin Diabetic Rats. *Singapore Med Journal.*
- Pathak S, Dorfmueller HC, Borodkin VS, and Aalten MF. 2008 . Chemical Dissection of the Link between Streptozotocin, O-GlcNAc, and Pancreatic Cell Death. *Pubmed Central J.* August 25; 15(8): 799–807.
- Pavani B.Ch., Kumar S.V., Ramarao J., Rau B.R., dan Mohanty S. 2012. Role of Biochemical Marker for Evaluation of Oxidative Stress in Cataract. *Int J Pharm Bio Sci*, 2(2): 178-184.
- Perkeni. 2011. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia.* Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Pieta, P.G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63, 1043-1046.
- Pocock, S.J. 2008. *Clinical Trials, A Practical Approach.* Cichestes, John Wiley & Sons.
- Powers, C.A. 2012, *Diabetes Mellitus in Longo, et al, Harrison's Principle of Internal Medicine 18th edition.* 2968-3002. The McGraw-Hill companies,

United States of America.

- Pribadi, G.A. (2008). Penggunaan Mencit dan Tikus Sebagai Hewan Model Penelitian Nikotin. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Price, S and Wilson, L. 2005. *Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6*. Jakarta: EGC.
- Rajasekaran S, Kasiappan R, Karuran S, Sorimuthu S. (2006). Beneficial Effects of *Aloe vera* Leaf Gel Extract on Lipid Profile Status In Rats with Streptozotocin Diabetes. *Journal of Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*
- Robertson, R.P, Harmon J., Tran P., and Poitout V. 2004. β -Cell Glucose Toxicity, Lipotoxicity, and Chronic Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. Washington : *Pacific Northwest Research Institute and the Departments of Medicine and Pharmacology*, University of Washington, Seattle.
- Robinovitch, A., W.S. Pinzon, L. Sorensen, R. Bleackley and R.F. Power. 1995. IFN γ Gene Expression In Pancreatis Islet Infiltrating Mononuklear Cells Correlates With Autoimmune Diabetes In Non Obese Diabetic Mice. *Journal Immunology*. 1995; 154:4874-4882
- Rodriguez, C., Mayo, J.C., Martin, V., Antolin, I., Herera, F., Rosa, M.S., Reiter, R.J. Regulation of Antioxidant Enzymes: A Significant Role for Melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36: 1 – 9.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan I. Yogyakarta. Penerbit Pustaka Pelajar.
- Sediarso et al., 2008. Efek Antidiabetes dan Identifikasi Senyawa Dominan dalam Fraksi Kloroform Herba Ciplukan. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 4 No. 2 Juli 2008: 63–69.
- Sen, C.K., Pachter, L., Hänninen, O. 2000. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam : Elsevier, hal : 269 – 270.
- Setiawan B dan Suhartono E. 2005. Stess oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 55 (2):86-91.
- Shihab, Quraish M. 2003. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Simanjuntak K. 2006. Peningkatan Radikal Bebas Akibat Aktivitas Xantin Oksidase. Volume 6. Nomor 1. Jakarta: *Profesi Medika*, hal : 23 – 29.
- Skoog, D.A., West, D.M. dan Holler, F.J. (1996). *Fundamental of Analytical Chemistry. 7th ed*. New York: Saunders College Publishing: 572-574.
- Slatter DA , Bolton CH and Bailey AJ . (2000) The Importance of Lipid-Derived Malondialdehyde in Diabetes Mellitus.. *PubMed*. 43 (5) :7-550.

- Smith, J.B., Mangkoewidjojo, S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Coba di Daerah Tropis. Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus)*: 37 – 57. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Soewonto. Hafiz. 2001. *Antioksidan Eksogen Sebagai Lini Pertahanan Kedua Dalam Menanggulangi Peran Radikal Bebas. Dalam: Kursus Penyegar 2001 Radikal Bebas Dan Antioksidan Dalam Kesehatan Dasar, Aplikasi, Dan Pemanfaatan Bahan Alam*. Jakarta: Bagian Biokimia FKUI. h. 1-25.
- Stahl, W., Sies, H. 2003. Antioxidant Activity of Carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*. 24, 345-351.
- Studiawan, H., dan Santoso, M.H. 2005. Uji Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Ektrak Daun Eugenia Polyantha Pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Media Kedokteran Hewan*.
- Studiawan, H., dan Santoso, M.H. 2005. Uji Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Ektrak Daun Eugenia Polyantha Pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Media Kedokteran Hewan*.
- Suarsana, Wresdiyati, dan Suprayogi A. 2013. Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *Skripsi*. Biologi UIN Malang
- Subarnas A. 2001. Komponen Aktif Antioksidan Dalam Bahan Alam. *Seminar Nasional dan Lokakarya. Pemahaman Konsep Radikal Bebas dan Peranan Antioksidan dalam Meningkatkan Kesehatan Menuju Indonesia Sehat 2010*. Pusat Penelitian Kesehatan. Bandung: Lembaga Penelitian Universitas Padjadjaran.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Yogyakarta: Ghalia Indonesia.
- Sugito. 2012. Aktivitas Antioksidan Biologis Sorgum Dan Jewawut Serta Aplikasinya Pada Pencegahan Penyakit Degeneratif. *Jurnal Pembangunan Manusia*, 6, 1.
- Surono, I.S., T. Nishigaki, A. Endaryanto, and P. Wasposito. 2006. Indonesian biodiversities from microbes to herbal plants as potential functional food. *J. Fac. Agric. Shinshu Univ.* 44(1-2): 23-27.
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol Res* 50: 536-546.
- Tangvarasittichal, Surapon. 2015. Oxidative Stress, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Type 2 Diabetes Mellitus. *World Journal of Diabetes*. 6(3): 456-480.
- Tjay, T.H. dan Rahardja. 2002. *Obat-obat Penting, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-6. Jakarta : Elex Media Komputindo, p : 568-9, 582.

- Triplitt C.L., Reasner C. A., and Isley, W.L. 2008. *Diabetes Mellitus*. In: Joseph T. DiPiro, Robert L. Talbert, Gary C. Yee, Gary R. Matzke, Barbara G. Wells, L. Michael Posey (Eds.). *Pharmacotherapy A Patophysiological Approach, 7th ed.* New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- Tsalissavrina, Iva. 2006. Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Trigliserida Dan HDL Darah Pada Rattus novergicus galur wistar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. XXII, No.2, Agustus 2006
- Turrens JF. Boveris A. Generation of Superoxide Anion by NADH Dehydrogenase of Bovine Heart Mitochondria. *Biochem J*.
- Underwood, A. L. and Day, R. A. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif. Edisi Keenam*. Jakarta. Penerbit Erlangga.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem Cell Biol*. 39:44-84.
- Wamaer, D. dan A. Malik. 2009. Analisis finansial pascapanen buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). *Jurnal Tambue Universitas Moh. Yamin Solok* VIII(1): 96–100.
- Wanita Penderita Candidiasis di Purwokerto. *M Med Indonesia*. 41:108– 12.
- Waspodo, I.S., dan Nishigaki, T. 2007. Novel Chemopreventive Herbal Plant Buah Merah (*Pandanus conoideus*) for Lung Cancers. *PATPI Conference Bandung. 17 – 18 Juli 2007*.
- WHO, 2016, Diabetes Fact Sheet, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>, diakses tanggal 23 Desember 2016.
- Wibudi, A. 2006. Mekanisme kerja Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Sebagai Antidiabetes. *Disertasi*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Widowati, L., Dzulkarnain, B., Sa'roni. 1997. Tanaman Obat Untuk Diabetes Mellitus. *Cermin Dunia Kedokteran*. 116: 53-60.
- Widowati, wahyu. 2005. Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase pada Berbagai Tanaman. *Artikel Penelitian JKM*. Vol. 5, No1, Juli 2005.
- Winarsi H, Hernayanti, Purwanto A, Sukanto. 2006. Profil dan Status Antioksidan Wanita Penderita Candidiasis di Purwokerto. *M Med Indones*. 41:108– 12.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Cetakan ke-2. Yogyakarta: Kanisnus.

- Winarsi, H. 2010. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Cetakan ke-4. Yogyakarta : Penerbit Kanisius. hal : 12 - 15,19,29-36,86-106.
- Wiyono. 2003. Pengaruh Pemberian Vitamin E terhadap Kadar Malondialdehid Pada Pengidap Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro*. Vol : 38. No 1.
- World Health Organization. 2011. *Noncommunicable disease country profiles 2011 WHO global report*. World Health Organization, Geneva.
- Wresdiyati T, Astawan M, Hastanti L Y. 2006. Profil Imunohistokimia Antioksidan Superoksida Dismutase (SOD) pada Jaringan Hati Tikus di Bawah Kondisi Hiperkolesterolemia. *Hayati*.
- Yahya, Machmud dan Bernard T.Wahyu Wiryanta. 2005. *Khasiat dan manfaat buah merah si emas merah dari papua*. Dalam: Mulyono, ed. Depok: PT.AgroMedia Pustaka.hlm.1-22.
- Young,I.S., Woodside, J.V. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54:176-186.



Lampiran 1. Hasil Uji Determinasi



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0192 /IPH.6/HM/H/2017

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Mutholiatul Masyrifah, NIM : 13670037

Mahasiswa Farmasi UIN Malang, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 31 Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume 1, tahun 1963, halaman 339 PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (3) ; Medicinal and poisonous plants 3, editor R.H.M.J. Lemmens dan N. Bunyaphatsara, tahun 2003,

nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Pandanus*
Species : *Pandanus conoideus* Lamk.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Liliopsida*
Subclass : *Arecidae*
Ordo : *Pandanales*
Family : *Pandanaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 9 Pebruari 2017

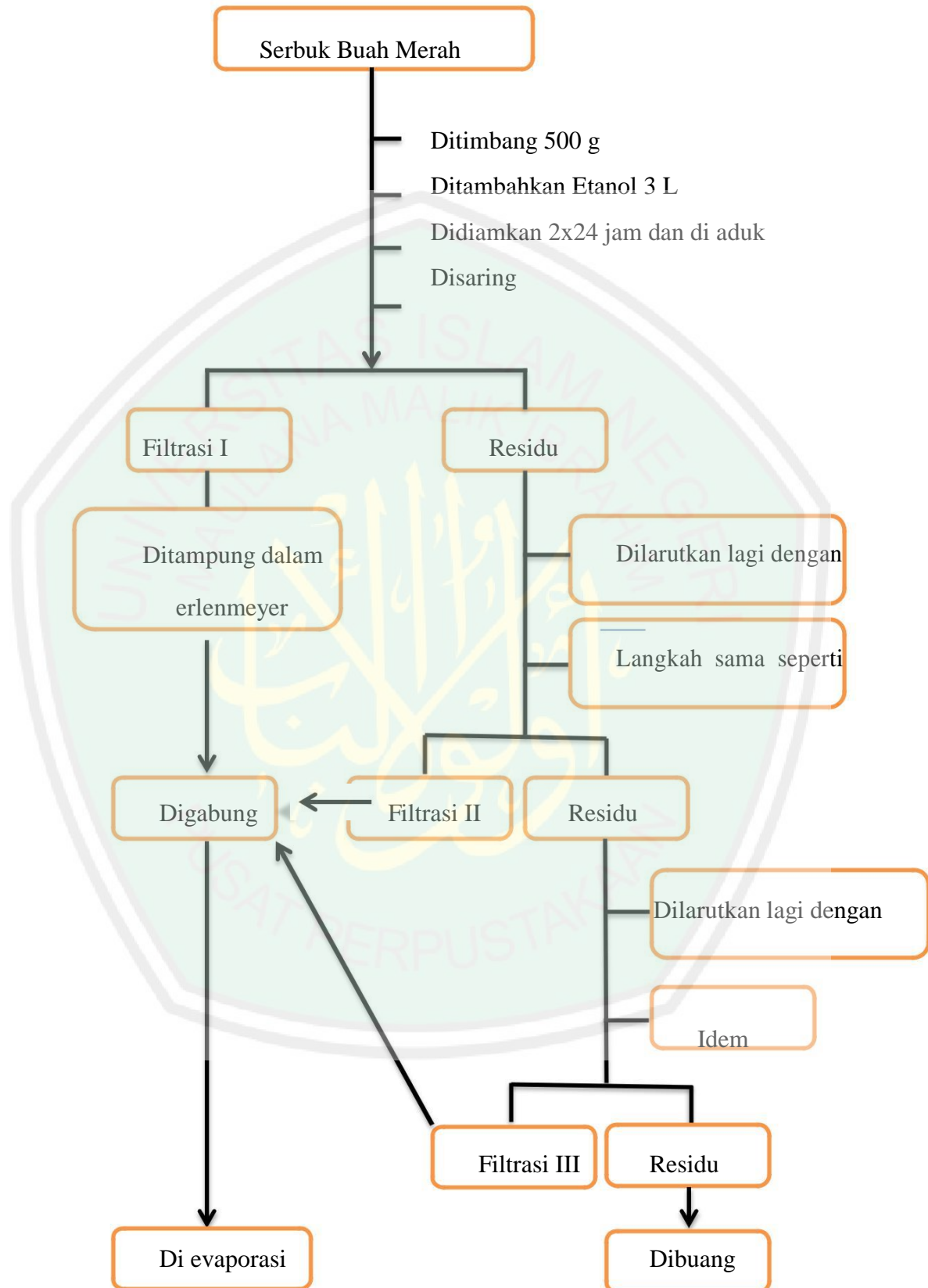
An. Kepala

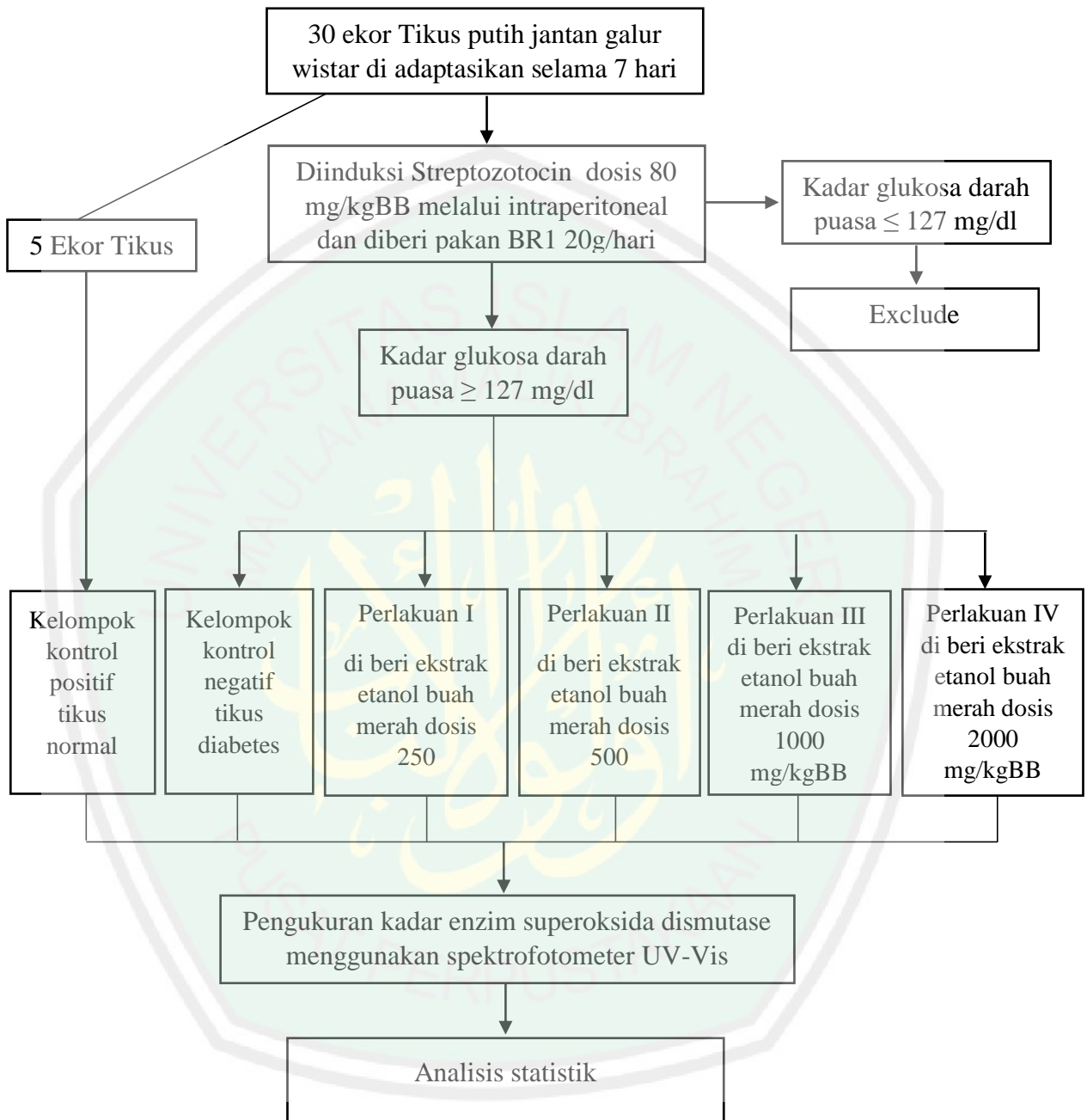
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

Lampiran 2. Prosedur Ekstraksi Buah Merah



Lampiran 3.**Diagram Alur Penelitian**

Lampiran 4. Keterangan Kelayakan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 193 / EC / KEPK – S1 / 05 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
 SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
 DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Uji Efek Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus Conoideus Lam.*)
 terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kadar SOD, serta
 Perbaikan Sel Langerhans Pankreas Tikus Putih Jantan Galur Wistar
 (*Rattus Norvegicus L.*) Diabetes Mellitus.

PENELITI : Diana Khalida
 Mutholiatul Masyrifah

UNIT / LEMBAGA : S1 Farmasi - Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
 Malang, Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 31 MAY 2017


 Ketua
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan
 Prof. Dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), M.Hum
 NIK 160746683

Catatan :
 Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
 Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.
 Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik
 Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 5. Pembuatan Larutan STZ

Buffer sitrat 0,1 M dari larutan asam sitrat sitrat 0,1 M ditambah sodium sitrat 0,1 M pada pH 6,3 dengan menggunakan pH meter.

- Dosis STZ = 80 mg/kg BB
- BB Tikus rata-rata = 200 g
- Maka dihitung: $80/1000 \times 200 = 16 \text{ mg}/200\text{gBB}$ tikus
- Dosis 25 Tikus = $16 \times 25 = 400 \text{ mg stz}$
- Penyuntikan intraperitoneal Tikus = 1 ml/ekor
- Dengan demikian dibuat larutan dengan konsentrasi 400 mg STZ dalam tiap 25 ml buffer sitrat



Lampiran 6. Dosis Ekstrak Etanol Buah Merah

Penelitian ini merupakan penelitian pendauluan sehingga acuan dosis mengacu pada penelitian sebelumnya mengenai dosis yang memiliki efek antidiabetes dengan mekanisme kerja sebagai antioksidan. Dosis ekstrak etanol buah merah yang digunakan adalah 250, 500, 1000, dan 2000 mg/kgBB/hari. (Anwar, 2015). Perhitungan dosis ekstrak etanol buah merah pada tikus adalah sebagai berikut :

1. Dosis ekstrak Etanol Buah Merah 250 mg/kg BB

- Dosis untuk tikus 200 gr = $(200/1000) \times 250 \text{ mg} = 50 \text{ mg / ekor}$
- Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam waktu 1 hari = $50 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} = 300 \text{ mg/hari}$
- Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam 30 hari = $30 \times 300 \text{ mg} = 9000 \text{ mg} = 9 \text{ g}$
- Selama 1 hari digunakan 1 cc per ekor, berarti untuk 6 ekor yaitu 6 cc. Sedangkan untuk 6 ekor dalam jangka waktu 30 hari = $6 \times 30 \text{ cc} = 180 \text{ cc}$
- Jadi ditimbang 9 g ekstrak etanol buah merah lalu ditambahkan pelarut sampai 180 cc, sehingga 1 ml mengandung 50 mg ekstrak etanol buah merah.

2. Dosis ekstrak Etanol Buah Merah 500 mg/kg BB

- Dosis untuk tikus 200 gr = $(200/1000) \times 500 \text{ mg} = 100 \text{ mg / ekor}$
- Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam waktu 1 hari = $100 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} = 600 \text{ mg/hari}$
- Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam 30 hari = $30 \times 600 \text{ mg} = 18.000 \text{ mg} = 18 \text{ g}$
- Selama 1 hari digunakan 1 cc per ekor, berarti untuk 6 ekor yaitu 6 cc. Sedangkan untuk 6 ekor dalam jangka waktu 30 hari = $6 \times 30 \text{ cc} = 180 \text{ cc}$
- Jadi ditimbang 18 g ekstrak etanol buah merah lalu ditambahkan pelarut sampai 180 cc, sehingga 1 ml mengandung 100 mg ekstrak etanol buah merah.

3. Dosis ekstrak Etanol Buah Merah 1000 mg/kg BB

- Dosis untuk tikus 200 gr = $(200/1000) \times 1000 \text{ mg} = 200 \text{ mg / ekor}$

- Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam waktu 1 hari = $200 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor}$
= 800 mg/hari
 - Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam 30 hari = $30 \times 800 \text{ mg} = 24.000 \text{ mg} = 24 \text{ g}$
 - Selama 1 hari digunakan 1 cc per ekor, berarti untuk 6 ekor yaitu 6 cc. Sedangkan untuk 6 ekor dalam jangka waktu 30 hari = $6 \times 30 \text{ cc} = 180 \text{ cc}$
 - Jadi ditimbang 24 g ekstrak etanol buah merah lalu ditambahkan pelarut sampai 180 cc, sehingga 1 ml mengandung 200 mg ekstrak etanol buah merah.
4. Dosis ekstrak Etanol Buah Merah 2000 mg/kg
- Dosis untuk tikus 200 gr = $(200/1000) \times 2000 \text{ mg} = 400 \text{ mg / ekor}$
 - Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam waktu 1 hari = $400 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor}$
= 2400 mg/hari
 - Banyaknya ekstrak yang digunakan dalam 30 hari = $30 \times 2400 \text{ mg} = 72.000 \text{ mg} = 72 \text{ g}$
 - Selama 1 hari digunakan 1 cc per ekor, berarti untuk 6 ekor yaitu 6 cc. Sedangkan untuk 6 ekor dalam jangka waktu 30 hari = $6 \times 30 \text{ cc} = 180 \text{ cc}$

Jadi ditimbang 72 g ekstrak etanol buah merah lalu ditambahkan pelarut sampai 180 cc, sehingga 1 ml mengandung 400 mg ekstrak etanol buah merah.

Lampiran 7. Data Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dL) Tikus (*Rattus norvegicus*) Sebelum (Post STZ) dan Sesudah Perlakuan Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk)

Kelompok	Post STZ (hari ke-3)	Post STZ (hari ke-7)	Setelah Perlakuan (minggu ke 1)	Setelah Perlakuan (minggu ke 2)
Kelompok Kontrol Positif (DM tanpa perlakuan)	431	446	468	600
	325	348	443	524
	323	351	354	393
	186	226	337	401
Kelompok Kontrol Negatif (Normal)	117	112	109	106
	110	108	87	118
	98	104	110	102
	102	110	113	93
Kelompok dosis 1 (250)	251	281	142	81
	318	367	133	97
	254	278	116	92
	174	216	117	71
Kelompok dosis 2 (500 mg/kgBB)	269	347	105	80
	281	380	132	84
	272	315	132	91
	186	217	98	72
Kelompok dosis 3 (1000 mg/kgBB)	326	393	116	81
	281	289	111	81
	229	316	120	89
	215	270	119	71
Kelompok dosis 4 (2000 mg/kgBB)	320	386	115	77
	276	292	113	80
	326	353	132	83
	197	256	100	67

Lampiran 8. Pembuatan Larutan SOD

1. Pembuatan Larutan Xantin 0,75 mM

Xantin , BM = 152,1 (Sigma Aldrich)

Substrat xantin yang ditimbang = $152,1 \times 0,75 = 114$

15,21 mg

$$\text{mmol xantin} = \frac{15,21 \text{ mg}}{152,1} = 0,1 \text{ mmol}$$

Dilartukan dengan 5 tetes NaOH 1 M dan encerkan dengan aquadest sampai dengan 100 ml (0,1 liter)

$$\text{mM larutan substrat xantin} = \frac{0,1 \text{ mmol}}{0,1 \text{ liter}} = 1 \text{ mM}$$

Sebanyak 10 mg xantin ditimbang seksama dan ditambahkan dengan lima tetes NaOH 1 N hingga larut, setelah itu diencerkan dengan akuabides sampai volume 50 ml (konsentrasi 1 mM).

2. Pembuatan Larutan Xantin Oksidase

Pada label kemasan dituliskan:

45,45 mg solid 0,11 unit/mg solid

Keterangan:

Solid = Xantin Oksidase

Perhitungan Unit Xantin Oksidase :

Jumlah total unit enzim:

$$45,45 \text{ mg solid} \times 0,11 \text{ unit/mg solid} = 4,9995 \text{ unit}$$

$$\frac{4,9995 \text{ unit}}{0,8 \frac{\text{unit}}{\text{mg}} \text{ protein}} = 6,249375 \text{ mg} \propto 6,25 \text{ mg protein}$$

$$\frac{45,45 \text{ mg solid}}{6,25 \text{ mg protein}} = \frac{7,27 \text{ mg solid}}{1 \text{ mg protein}} = 7,27 \text{ mg solid/ 1 mg protein.}$$

Perhitungan yang diperoleh dari keterangan pada label kemasan xantin oksidase diperoleh : 1 mg protein ~ 7,27 mg solid ~ 0,8 unit. Konsentrasi larutan enzim yang dibuat adalah 0,1 unit/ml.

Pembuatan Larutan Xantin Oksidase 0,04 unit/ml :

Untuk tiap ml diperlukan xantin oksidase sebanyak:

$$0,04/0,8 \times 7,272 = 0,3636 \text{ mg}$$

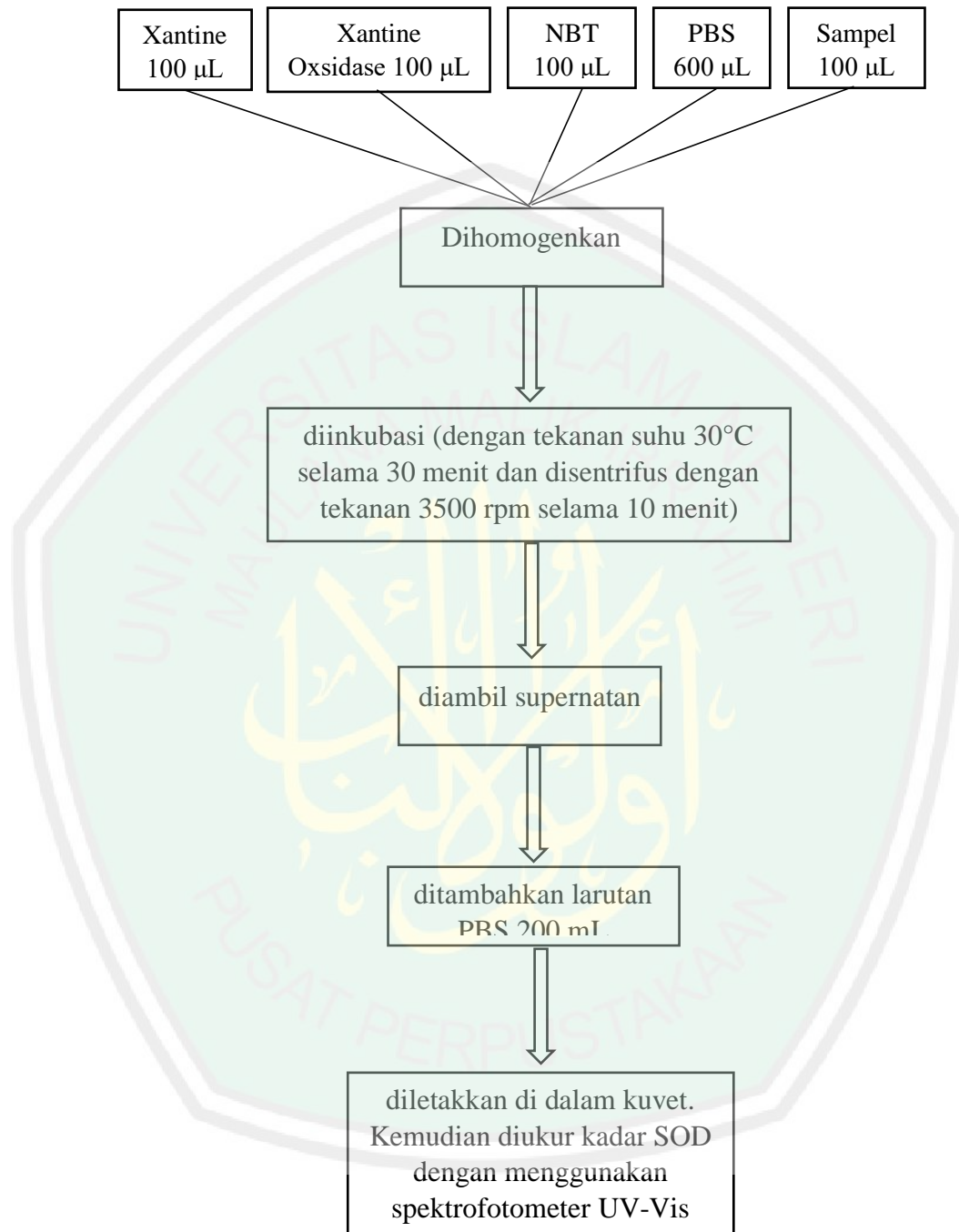
Jika dibuat dalam 10 ml, maka jumlah enzim yang harus ditimbang sebanyak:

$$0,3636 \text{ mg /ml} \times 10 \text{ ml} = 3,636 \text{ mg.}$$

Larutan dibuat dengan cara ditimbang 3,636 mg xantin oksidase lalu dimasukkan ke dalam labu ukur dan dilarutkan dalam 10 ml larutan dapar fosfat EDTA pH optimum dalam kondisi dingin, sehingga diperoleh larutan enzim 0,04 U/mL.

3. Pembuatan Larutan PBS (Phosphate Buffer Saline)

Larutan PBS dapat dibuat dari KCl sebanyak 0,1 gram, KH_2PO_4 sebanyak 0,1 gram, Na Cl sebanyak 4 gram, dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Sebanyak 1,08 gram. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam 250 mL akuades steril dan dihomogenkan menggunakan magnetik stirer dalam gelas kimia 500 mL. pH larutan diatur hingga mencapai 7,4 dengan larutan NaOH 1 M menggunakan pH meter. Kemudian dipindahkan larutan ke dalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan akuades steril hingga tanda batas.

Lampiran 9. Prosedur Pengukuran Kadar SOD

Lampiran 10. Hasil Kadar SOD Serum Darah Tikus

NO	Kelompok	Absorbansi	SOD ($\mu\text{g/mL}$)
1	K + 1	0.227	6.789
2	K + 2	0.228	6.844
3	K + 3	0.220	6.400
4	K + 4	0.238	7.400
Rata-rata		0.228	6.858
6	K – 1	0.293	10.456
7	K – 2	0.285	10.011
8	K – 3	0.279	9.678
9	K – 4	0.283	9.900
Rata-rata		0.285	10.011
10	P250 1	0.245	7.789
11	P250 2	0.259	8.567
12	P250 3	0.229	6.900
13	P250 4	0.238	7.400
Rata-rata		0.243	7.664
14	P500 1	0.272	9.289
15	P500 2	0.240	7.511
16	P500 3	0.255	8.344
17	P500 4	0.269	9.122
Rata-rata		0.259	8.567
18	P1000 1	0.270	9.178
19	P1000 2	0.252	8.178
20	P1000 3	0.257	8.456
21	P1000 4	0.282	9.844
Rata-rata		0.265	8.914
22	P2000 1	0.285	10.011
23	P2000 2	0.289	10.233
24	P2000 3	0.267	9.011
25	P2000 4	0.298	10.733
Rata-rata		0.285	9.997

Lampiran 11. Perhitungan Kadar Enzim Superoksida Dismutase

$$Y = 0.0180x + 0.104$$

a. K + 1

$$0.227 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1222$$

$$x = 6.7888888889 \mu\text{g/mL}$$

b. K + 2

$$0.228 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1232$$

$$x = 6.8444444444 \mu\text{g/mL}$$

c. K + 3

$$0.220 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1152$$

$$x = 6.4 \mu\text{g/mL}$$

d. K + 4

$$0.238 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1332$$

$$x = 7.4 \mu\text{g/mL}$$

e. K - 1

$$0.293 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1882$$

$$x = 10.4555555556 \mu\text{g/mL}$$

f. K - 2

$$0.285 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1802$$

$$x = 10.0111111111 \mu\text{g/mL}$$

g. K - 3

$$0.279 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1742$$

$$x = 9.6777777778 \mu\text{g/mL}$$

o. P500-3

$$0.255 = 0.0180x + 0.104$$

h. K - 4

$$0.283 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1782$$

$$x = 9.9 \mu\text{g/mL}$$

i. P250-1

$$0.245 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1402$$

$$x = 7.7888888889 \mu\text{g/mL}$$

j. P250-2

$$0.259 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1542$$

$$x = 8.5666666667 \mu\text{g/mL}$$

k. P250-3

$$0.229 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1242$$

$$x = 6.9 \mu\text{g/mL}$$

l. P250-4

$$0.238 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1332$$

$$x = 7.4 \mu\text{g/mL}$$

m. P500-1

$$0.272 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1672$$

$$x = 9.2888888889 \mu\text{g/mL}$$

n. P500-2

$$0.240 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1352$$

$$x = 7.5111111111 \mu\text{g/mL}$$

w. P2000-3

$$0.267 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1502$$

$$x = 8.3444444444 \mu\text{g/mL}$$

p. P500-4

$$0.269 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1642$$

$$x = 9.1222222222 \mu\text{g/mL}$$

q. P1000-1

$$0.270 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1652$$

$$x = 9.1777777778 \mu\text{g/mL}$$

r. P1000-2

$$0.252 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1472$$

$$x = 8.1777777778 \mu\text{g/mL}$$

s. P1000-3

$$0.257 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1522$$

$$x = 8.4555555556 \mu\text{g/mL}$$

t. P1000-4

$$0.282 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1772$$

$$x = 9.8444444444 \mu\text{g/mL}$$

u. P2000-1

$$0.285 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1802$$

$$x = 10.0111111111 \mu\text{g/mL}$$

v. P2000-2

$$0.289 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1842$$

$$x = 10.2333333333 \mu\text{g/mL}$$

$$0.0180x = 0.1622$$

$$x = 9.0111111111 \mu\text{g/mL}$$

x. P2000-4

$$0.298 = 0.0180x + 0.104$$

$$0.0180x = 0.1932$$

$$x = 10.7333333333 \mu\text{g/mL}$$

**Lampiran 12. Hasil Perhitungan Statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL)
SPSS 16**

1. Uji Deskriptif Kadar SOD Serum Darah Tikus Wistar

Descriptives

μg/mL	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					kelompok positif	4		
kelompok negatif	4	10.0112	.32723	.16361	9.4906	10.5319	9.68	10.46
kelompok 250	4	7.6640	.70343	.35171	6.5447	8.7833	6.90	8.57
kelompok 500	4	8.5665	.81531	.40765	7.2692	9.8638	7.51	9.29
kelompok 1000	4	8.9140	.74968	.37484	7.7211	10.1069	8.18	9.84
kelompok 2000	4	9.9970	.72337	.36168	8.8460	11.1480	9.01	10.73
Total	24	8.6685	1.30655	.26670	8.1168	9.2202	6.40	10.73

2. Uji Normalitas Kadar SOD Serum Darah Tikus Wistar

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
μg/mL kelompok positif	.264	4	.	.954	4	.740
kelompok negatif	.250	4	.	.953	4	.732
kelompok 250	.179	4	.	.987	4	.941
kelompok 500	.252	4	.	.916	4	.513
kelompok 1000	.229	4	.	.949	4	.711
kelompok 2000	.258	4	.	.949	4	.708

a. Lilliefors Significance Correction

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		$\mu\text{g/mL}$
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	8.6685
	Std. Deviation	1.30655
Most Extreme Differences	Absolute	.113
	Positive	.104
	Negative	-.113
Kolmogorov-Smirnov Z		.556
Asymp. Sig. (2-tailed)		.917

a Test distribution is Normal.

3. Uji Homogenitas Kadar SOD Serum Darah Tikus Wistar

Test of Homogeneity of Variances

$\mu\text{g/mL}$

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.066	5	18	.411

4. Uji One Way Anova Kadar SOD Serum Darah Tikus Wistar

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	31.698	5	6.340	15.086	.000
	Linear Term	10.115	1	10.115	24.070	.000
	Contrast	21.584	4	5.396	12.840	.000
Deviation		21.584	4	5.396	12.840	.000
Within Groups		7.564	18	.420		
Total		39.263	23			

5. Uji Least Significant Difference (LSD) Kadar SOD Serum Darah Tikus Wistar

Multiple Comparisons

Dependent Variable:
µg/mL

	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	kelompok positif	kelompok negatif	-3.15300*	.45838	.000	-4.1160	-2.1900
		kelompok 250	-.80575	.45838	.096	-1.7688	.1573
		kelompok 500	-1.70825*	.45838	.002	-2.6713	-.7452
		kelompok 1000	-2.05575*	.45838	.000	-3.0188	-1.0927
		kelompok 2000	-3.13875*	.45838	.000	-4.1018	-2.1757
	kelompok negatif	kelompok positif	3.15300*	.45838	.000	2.1900	4.1160
		kelompok 250	2.34725*	.45838	.000	1.3842	3.3103
		kelompok 500	1.44475*	.45838	.006	.4817	2.4078
		kelompok 1000	1.09725*	.45838	.028	.1342	2.0603
		kelompok 2000	.01425	.45838	.976	-.9488	.9773
	kelompok 250	kelompok positif	.80575	.45838	.096	-.1573	1.7688
		kelompok negatif	-2.34725*	.45838	.000	-3.3103	-1.3842
		kelompok 500	-.90250	.45838	.065	-1.8655	.0605
		kelompok 1000	-1.25000*	.45838	.014	-2.2130	-.2870
		kelompok 2000	-2.33300*	.45838	.000	-3.2960	-1.3700
	kelompok 500	kelompok positif	1.70825*	.45838	.002	.7452	2.6713
		kelompok negatif	-1.44475*	.45838	.006	-2.4078	-.4817
		kelompok 250	.90250	.45838	.065	-.0605	1.8655
		kelompok 1000	-.34750	.45838	.458	-1.3105	.6155
		kelompok 2000	-1.43050*	.45838	.006	-2.3935	-.4675
kelompok 1000	kelompok positif	2.05575*	.45838	.000	1.0927	3.0188	
	kelompok negatif	-1.09725*	.45838	.028	-2.0603	-.1342	
	kelompok 250	1.25000*	.45838	.014	.2870	2.2130	
	kelompok 500	.34750	.45838	.458	-.6155	1.3105	
	kelompok 2000	-1.08300*	.45838	.030	-2.0460	-.1200	
kelompok 2000	kelompok positif	3.13875*	.45838	.000	2.1757	4.1018	
	kelompok negatif	-.01425	.45838	.976	-.9773	.9488	
	kelompok 250	2.33300*	.45838	.000	1.3700	3.2960	
	kelompok 500	1.43050*	.45838	.006	.4675	2.3935	
	kelompok 1000	1.08300*	.45838	.030	.1200	2.0460	

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

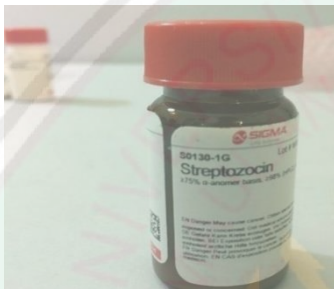
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian**Timbangan Analitik****Glukometer dan Strip****Seperangkat Alat Bedah****Rotary Evaporator****Oven****Spektrofotometer UV-Vis**



Ekstrak etanol buah merah



Glibenklamid dan ekstrak etanol buah merah yang telah dilautkan DMSO



Streptozotocin



Stok STZ



Penimbangan BB Tikus



Proses aklimatisasi



Injeksi STZ



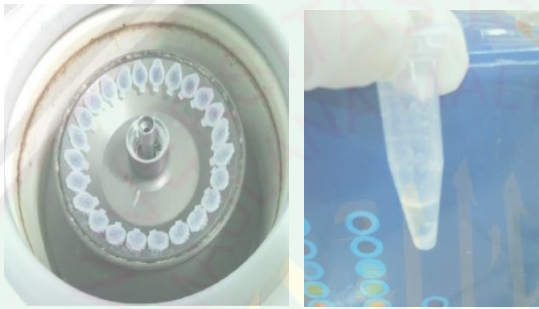
Pengukuran KGDP



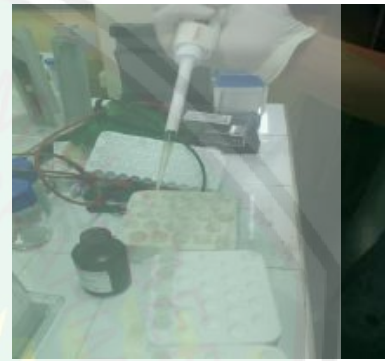
Proses Perlakuan Sonde Buah Merah



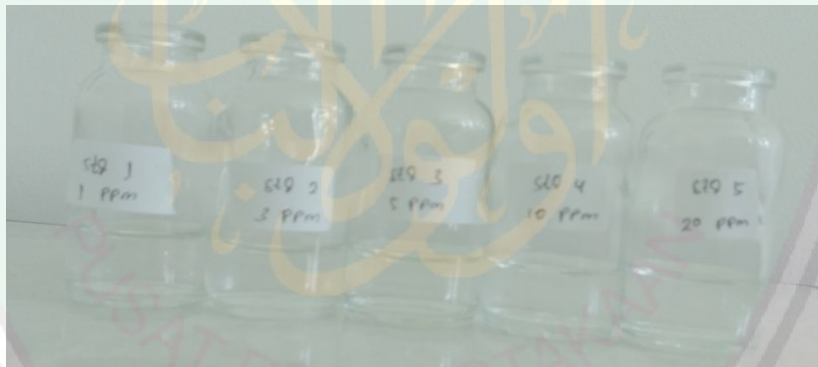
Pembedahan Tikus dan Pengambilan Darah dari Jantung



Pembuatan Serum Darah



Analisis Kadar SOD



Larutan standart



Data Kadar Gula Darah Puasa

KARTU KONSULTASI PENELITIAN DAN PENYUSUNAN SKRIPSI



Nama : Mutholiatul Masryifah
 NIM : 13620087
 Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian ekstrak etanol buah merah (Panbanus conc. Deus Lamk.) Terhadap Kadar Enzim Superoksida Dismutase Pada tikus wistar jantan (Rattus norvegicus L.) Diabetes Mellitus

Pembimbing I : Abdul Wafi M.Si
 Pembimbing II : Dr. Erna Susanti M.BiomD, Apt.
 Pembimbing Agama : Dewi Sinta Megawati M.Sc

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan	Tanda Tangan
1.	14 - 6 - 2017	Data Analisis Statistik	Lampiran dilengkapi secara detail	
2.	5 - 7 - 2017	Bab \bar{v} & Revisi data	-Perhitungan dilampirkan -Pembahasan UV-VIS ditambah	
3.	10 - 7 - 2017	Bab \bar{v} & \bar{v}_1	kesimpulan lebih rinci	
4.	14 - 7 - 2017	Revisi Bab \bar{v} & \bar{v}_1	Data Sekunder dilampirkan	
5.	20 - 7 - 2017	ACC keseluruhan	Lampiran dilengkapi	

KARTU KONSULTASI PENELITIAN DAN PENYUSUNAN SKRIPSI



Nama : Anutholiatul Mulyarifah
 NIM : 13670027
 Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (Pananus CondiDeus Lamk.) Terhadap kadar Enzim Superoksida Dismutase Pada Tikus Wistar Jantan (Rattus norvegicus L.) Diabetes Mellitus
 Pembimbing I : Abdul Wafi M.Si
 Pembimbing II : Dr. Erna Susanti M.Biomed, Apt.
 Pembimbing Agama : Dewi Linta Megawati M.Sc

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan	Tanda Tangan
1.	16 - 6 - 2017	konsultasi bab I & II	Ayat bab II Arganti	
2.	5 - 7 - 2017	Revisi Bab I & II	ACC Bab I & II	
3.	17 - 7 - 2017	konsultasi Bab II	lihat tafsir tentang kadar	
4.	24 - 7 - 2017	Revisi Bab V	Pembahasan filengkap	
5.	25 - 7 - 2017	ACC keseluruhan		

KARTU KONSULTASI PENELITIAN DAN PENYUSUNAN SKRIPSI



Nama : Mutholiatul Mulyarifah
 NIM : 13670037
 Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.) Terhadap kadar Enzim Superoksida Dismutase Pada Tikus Wistar Jantan (Rattus norvegicus L.) Diabetes Mellitus
 Pembimbing I : Abdul wafi msi
 Pembimbing II : Dr. Erna Susanti M.Biomed, APL.
 Pembimbing Agama : Dewi Ginta Megawati M.Sc

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan	Tanda Tangan
1.	16 - 6 - 2017	konsultasi cara analisis statistik	Perhitungan dilampirkan	
2.	6 - 7 - 2017	Revisi cara & konsultasi Bab I	Pembahasan tentang radikal bebas ditambah	
3.	12 - 7 - 2017	Revisi Bab I	Pembahasan fluonost dilampirkan	
4.	17 - 7 - 2017	Revisi Bab I & II	Kesimpulan dilampirkan	
5.	21 - 7 - 2017	ACC keseluruhan	Lampiran dilampirkan	



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
JURUSAN FARMASI

Jl. Ir. Soekarno No.34 Dadaprejo Batu, Telepon (0341) 577033 Faksimile (0341) 577033
Website: <http://fkik.uin-malang.ac.id>. E-mail: fkik@uin-malang.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Mutholiatul Masyrifah
NIM : 13670037
Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Terhadap Kadar Enzim Superoksida Dismutase Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus L.*) Diabetes Mellitus
Tanggal Seminar Hasil : 8 September 2017

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta diperkenankan untuk melanjutkan ke tahap penelitian.

No	Nama Dosen	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1.	Siti Maimunah, M.Farm., Apt.	14 - 09 - 2017	
2.	Dr. Erna Susanti, M.Biomed., Apt.	11 - 09 - 2017	
3.	Dewi Sinta Megawati, M.Sc	11 - 09 - 2017	
4.	Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt.	13 - 09 - 2017	

Catatan :

1. Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa TIDAK dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yudisium
2. Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.

Malang,
Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Rohatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 001