



HANG TUAH MEDICAL JOURNAL

www.journal-medical.hangtuah.ac.id

Pengaruh Ekstrak Daun Dan Buah Ketapang Terhadap Malondialdehida Pankreas *Rattus Norvegicus* Jantan yang Diinduksi Aloksan dan Diet Tinggi Lemak

LYBELARY DEWI SATRIANAWATY, FRANSISKA CHRISTELA, ANTHONY ANUGERAH JOSHUA, SULISTIANA PRABOWO
Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah
Email : Lybelarysatrianawaty4@gmail.com

ABSTRACT

Background : Diabetes mellitus is a chronic disease caused by high levels of blood glucose.

Hyperglycemia will cause the formation of free radicals which can damage cells. To reduce this effect, antioxidants are needed. Aloksan is a chemical that can damage beta cells, resulting in decreased insulin production. Ketapang (*Terminalia catappa*) is a plant that can be used because of its antioxidant content. The administration of ketapang extract is thought to reduce levels of malondialdehyde. Malondialdehyde is a biomarker for the occurrence of lipid peroxidation in the body caused by an increase in free radicals due to the occurrence of oxidative stress.

Metode : 32 male rats divided into 4 groups. Three groups will be given high-fat diet for 7 days followed by induced alloxan at a dose of 90 mg / kgBW to increase blood glucose levels and pancreatic malondialdehyde levels. Then 2 groups will be given treatment for 14 days. The first treatment group was given Ketapang extract with a dose of 600 mg / kgBW and the second treatment group which was given glibenclamide using a dose of 0.09 mg / kgBW.

Results: administration of ketapang leaf and fruit extract reduced the levels of malondialdehyde in Wistar rats given a high fat diet and induced by alloxan, but did not significant ($p = 0.916$). There was a significant reduction in malondialdehyde in Wistar rats given glibenclamide ($p = 0.016$).

Conclusions: the administration of ketapang leaf and fruit extract were able to reduce the levels of pancreatic malondialdehyde given a high-fat diet and induced by alloxan.

Keywords: Malondialdehyde, ketapang, High-Fat Diet

ABSTRAK

Latar Belakang: Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang disebabkan karena tingginya kadar glukosa dalam darah. Hiperglikemia akan menyebabkan pembentukan radikal bebas yang dapat merusak sel-sel tubuh. Untuk meredam efek ini diperlukan antioksidan. Aloksan merupakan salah satu bahan kimia yang dapat merusak sel beta, akibatnya produksi insulin menurun. Ketapang (*Terminalia catappa*) merupakan tumbuhan yang dapat dimanfaatkan karena kandungan antioksidan didalamnya. Pemberian ekstrak ketapang diduga dapat menurunkan kadar malondialdehida. Malondialdehida merupakan biomarker terjadinya peroksidasi lipid dalam tubuh yang disebabkan oleh peningkatan radikal bebas karena terjadinya proses stres oksidatif.

Metode : 32 tikus jantan dibagi menjadi 4 kelompok. Tiga kelompok akan diberi diet tinggi lemak selama 7 hari dilanjutkan dengan diinduksi aloksan dengan dosis 90 mg/kgBB untuk meningkatkan kadar glukosa darah dan malondialdehida. Kemudian 2 kelompok akan diberikan perlakuan selama 14 hari. Kelompok perlakuan 1 yang diberi glibenklamid menggunakan dosis 0,09 mg/kgBB dan kelompok perlakuan 2 diberi ekstrak Ketapang dosis 600 mg/kgBB.

Hasil: pemberian ekstrak daun dan buah ketapang (menurunkan kadar malondialdehid pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak dan diinduksi aloksan namun tidak signifikan ($p=0,916$). Terdapat penurunan malondialdehida pankreas yang signifikan pada tikus putih jantan galur Wistar yang diberi glibenklamid ($p=0,016$).

Kesimpulan : pemberian ekstrak daun dan buah ketapang kadar malondialdehida hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dan diinduksi aloksan.

Kata kunci : Malondialdehida, ketapang, Diet tinggi lemak

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah kelainan yang bersifat kronis, ditandai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak yang disebabkan defisiensi insulin baik absolut dan atau relatif (WHO, 1994). Diabetes melitus ditandai dengan penurunan sekresi insulin yang disebabkan karena resistensi insulin dan defisiensi insulin atau keduanya (ADA, 2015). Kerusakan reseptor insulin akan menyebabkan peningkatan radikal bebas (Moussa, 2008). Peningkatan ROS (*Reactive Oxidative Stress*) yang akan mempengaruhi peningkatan kadar malondialdehida dalam serum

atau jaringan (Tiwari *et al*, 2013). Radikal bebas dalam jumlah banyak akan akan mengakibatkan peroksidasi lipid (Widia, 2009).

Malondialdehida (MDA) merupakan biomarker produk akhir dari proses peroksidasi lipid. Peningkatan kadar MDA dapat menyebabkan kebocoran membran sel karena struktur membran berubah, inaktivasi ikatan antara membran dan enzim, dan inaktivasi reseptor di permukaan membran sel sehingga dapat menyebabkan gangguan regulasi sel (Mahreen *et al*, 2010). Aloksan merupakan bahan kimia yang biasa digunakan untuk menginduksi hewan coba supaya dalam kondisi diabetik, karena aloksan selektif sel beta pankreas yang mensekresi hormon insulin (Suharmiati, 2003). Pembentukan ROS oleh aloksan terbentuk oleh siklus redoks yang membentuk radikal hidroksil yang mampu merusak sel beta (McLetchie, 2002).

Pemberian diet tinggi lemak dapat menyebabkan hiperlipidemia. Dalam kondisi hiperlipidemia akan menyebabkan ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid. Efek dari hiperlipidemia dapat meningkatkan kadar MDA serum atau jaringan dikarenakan terjadinya proses stres oksidatif karena banyaknya radikal bebas dalam tubuh (Yang *et al*, 2008).

Penderita diabetes melitus tipe-2 biasanya mengkonsumsi glibenklamid untuk menurunkan kadar glukosa darah dikarenakan mampu menstimuli sekresi insulin (Baroroh *et al.*, 2011). Pemberian glibenklamid secara terus menerus dapat menimbulkan degranulasi pada sel-sel β -pankreas (Ling *et al.*, 2006).

Normalnya, radikal bebas yang dihasilkan tubuh dapat diredam dengan antioksidan. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas dan mengurangi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas (Samuel *et al*, 2010). *Terminalia catappa* L. dari keluarga *Combretaceae*. *Terminalia catappa* atau yang lebih dikenal dengan nama ketapang digunakan terutama sebagai tanaman hias, dan pohon dipinggir jalan dan biji dapat dimakan seperti almond. Pohon ini dikenal sebagai almond tropis. telah diklaim memiliki efek terapi untuk penyakit liver. Daunnya banyak digunakan sebagai obat tradisional di Asia Tenggara untuk pengobatan dermatitis dan hepatitis. Banyak studi telah melaporkan bahwa ekstrak *Terminalia catappa* memiliki efek sebagai antikanker, antioksidan, antitranscriptase, antiinflamasi dan antidiabetik namun, komponen dan mekanisme terkait aktivitas fitokimia, antimikroba dan aktivitas antioksidan dari ekstrak ketapang masih belum banyak diketahui. Ketapang

diketahui memiliki kandungan antioksidan. Seperti flavonoid, tripenoid dan tanin (Ahmed *et al*, 2005)

Oleh sebab tersebut peneliti ingin mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak ketapang (*Terminalia catappa*) untuk menurunkan kadar MDA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan dan diberi pakan tinggi lemak.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Hang Tuah Surabaya. Sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-200 gram sebanyak 32 ekor. Teknik pengambilan sampel dari populasi dengan menggunakan *simple random sampling* atau rancangan acak sederhana. Pengambilan sampel dirancang sedemikian rupa sehingga tiap individu memiliki kesempatan untuk diambil sebagai sampel (Budiarto, 2004).

Diet tinggi lemak menggunakan pakan berupa pelet yang telah dicampur dengan minyak babi.

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *post test only control group design*. Pada metode penelitian ini digunakan 4 kelompok tikus putih galur Wistar :

1. Kelompok kontrol negatif : Kelompok tikus putih jantan galur Wistar yang diberi pakan standar dan minum air yang difilter selama 24 hari.
2. Kelompok kontrol positif : Kelompok tikus putih jantan galur Wistar yang diberi pakan tinggi lemak selama 7 hari, diinduksi aloksan dengan dosis 90 mg/kgBB dihari ke 8, diberi pakan standar selama 17 hari dan minum air yang difilter selama 24 hari.
3. Kelompok perlakuan 1 : Kelompok tikus putih jantan galur Wistar yang diberi pakan tinggi lemak pada 7 hari pertama, dan diinduksi aloksan dengan dosis 90 mg/kgBB pada hari ke 8 dan perlakuan glibenklamid dengan dosis 0,09 mg/kgBB mulai hari ke 11 dan diberi pakan standar dan minum air yang difilter selama 14 hari.

4. Kelompok perlakuan 2 : Kelompok tikus putih jantan galur Wistar yang diberi pakan tinggi lemak selama 7 hari, diinduksi aloksan pada hari ke 8 dan perlakuan ekstrak ketapang dengan dosis 600 mg/kgBB dimulai pada hari ke 11 dan diberi pakan standar dan minum air yang difilter selama 14 hari

Pada hari ke 25 tikus dipuasakan dan hanya minum air saja. Pada hari ke 26 penelitian dilakukan pemeriksaan kadar malondialdehida jaringan pankreas pada semua kelompok.

Pembuatan ekstrak daun dan buah ketapang dengan cara :mencuci dan mengeringkan daun dan buah ketapang, kemudian diblender hingga halus dan diayak dengan ayakan no 4/18. Serbuk yang dihasilkan ditimbang, lalu dimasukkan dalam bejana tertutup dan dibasahi dengan alkohol 96%. Kemudian masukkan dalam perkolator, tambahkan alkohol 96% dan didiamkan selama 24 jam lalu ditampung. Perkolat yang dihasilkan diuapkan dalam suhu rendah (50°C), kemudian didapatkan hasil akhir berupa ekstrak daun kelor.

Pemeriksaan MDA pankreas dengan cara pankreas tikus sebanyak 0,5 gram dicampur dengan pasir kuarsa kemudian digerus hingga halus. Ditambahkan 200µL NaCl fisiologis. Homogenat dimasukkan dalam tabung poipropilen dan tambahkan 550 µL aquadest. Tambahkan 100µL TCA campur hingga homogen. Ditambahkan 250µL HCl kedalam larutan, campur hingga homogen. Ditambahkan 100µL Na-Thio 1% kamudian di sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Kemudian supernatan disaring menggunakan glass wool kemudian dipanasakan di waterbath dengan suhu 100°C selama 20 menit kemudian dinginkan disuhu ruang. Supernatan dibaca dengan spektrofotometri sinar tampak dengan panjang gelombang maksimal.

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini pemberian diet tinggi lemak dan aloksan digunakan supaya hewan coba dikondisikan dalam kondisi diabetik. Hal ini ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah hewan coba. Kadar glukosa darah hewan coba dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1 Kadar glukosa darah hewan coba

	Kadar Glukosa Hewan Coba (mg/dL)
--	----------------------------------

Tikus	K(-)	K(+)	P1(glibenklamid)	P2(Ekstrak ketapang)
1	121	679	185	487
2	128	163	227	138
3	147	193	170	198
4	157	179	157	182
5	165	285	122	184
6	108	305	193	237
7	141	220	185	219
8	130	244	188	244
Rerata	137,13	283,50	178,38	236,13

Keterangan :

K(-) : kelompok tikus yang diberi pakan standar tanpa induksi aloksan

K(+) : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan

P1 : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta glibenklamid

P2 : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta ekstrak ketapang

Dari hasil penelitian didapatkan peningkatan kadar glukosa darah pada keseluruhan kelompok tikus jika dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberi pakan standar tanpa induksi aloksan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian aloksan mampu meningkatkan kadar glukosa darah tikus. Peningkatan rerata glukosa darah terbesar didapatkan pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan sebesar 283,50 mg/dL. Rerata kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta perlakuan glibenklamid sebesar 178,38 mg/dL. Rerata kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta perlakuan ketapang sebesar 236,13 mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid dan ekstrak ketapang dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Pada penelitian ini kadar MDA pankreas dari masing masing kelompok akan dibandingkan dan digunakan uji statistik untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki kadar MDA paling rendah. Kadar MDA pankreas hewan coba dapat dilihat di Tabel 2

Tabel 2 Kadar MDA pankreas hewan coba

Tikus	Kadar MDA Pankreas (nmol/g)			
	K(-)	K(+)	P1 (glibenklamid)	P2 (Ekstrak ketapang)
1	313	1302	1083	1427
2	754	1007	1039	1779
3	409	2150	789	1586
4	422	1564	957	1094
5	367	1018	797	1159
6	742	1127	1044	984

7	349	1361	699	842
8	415	1021	915	1267
Rerata	471,38	1318,75	915,38	1267,25

Keterangan :

K(-) : kelompok tikus yang diberi pakan standar tanpa induksi aloksan

K(+) : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan

P1 : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta glibenklamid

P2 : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta ekstrak ketapang

Dari hasil pada Tabel 1 dapat dilihat terdapat peningkatan kadar MDA pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan aloksan, kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta perlakuan glibenklamid dan kelompok perlakuan yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta perlakuan ketapang. Peningkatan paling tinggi terdapat pada rerata kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan aloksan sebesar 1318,75 nmol/g jika dibandingkan dengan rerata kelompok yang tidak diberi diet tinggi lemak dan aloksan yang hanya 471,38 nmol/g. Pada kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak dan aloksan serta perlakuan glibenklamid memiliki rerata sebesar 915,38 nmol/g dan pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan aloksan serta perlakuan ekstrak daun dan buah ketapang memiliki rerata sebesar 1267,25 nmol/g. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid dan ekstrak ketapang mampu menurunkan kadar MDA pankreas hewan coba.

Hasil uji Mann-Whitney U kadar MDA pankreas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Hasil uji Mann-Whitney U kadar MDA pankreas kelompok hewan coba yang diberi pakan standar tanpa induksi aloksan, kelompok hewan coba yang diberi pakan tinggi lemak dan diinduksi aloksan, kelompok hewan coba yang diinduksi aloksan dan diberi glibenklamid, dan kelompok hewan coba yang diberi pakan tinggi lemak, diinduksi aloksan dan diberi ekstrak daun dan buah ketapang

	K+	P1	P2
K -	0,001	0,002	0,001
K+		0,016	0,916
P1			0,012

Keterangan :

K(-) : kelompok tikus yang diberi pakan standar tanpa induksi aloksan

K(+) : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan

P1 : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta glibenklamid

P2 : kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta ekstrak ketapang

Hasil uji Mann-Whitney U kadar MDA Pankreas dapat disimpulkan

Pemberian diet tinggi lemak dan induksi aloksan mampu meningkatkan kadar MDA pankreas secara bermakna pada seluruh tikus yang diberikan perlakuan tersebut dapat dilihat dari hasil perbandingan dari K(-) dengan K(+) ($p=0,001$), P1 ($p= 0,002$) dan P2 ($p=0,001$).

Terdapat peningkatan hasil yang signifikan pada tikus yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta glibenklamid ($p= 0,016$). Sedangkan pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak dan induksi aloksan serta ekstrak ketapang tidak menunjukkan adanya penurunan MDA pankreas secara signifikan ($p=0,916$).

PEMBAHASAN

Peningkatan kadar MDA pankreas tikus pada penelitian ini disebabkan oleh pakan tinggi lemak dan induksi aloksan yang mengakibatkan peningkatan kadar glukosadan MDA pankreas. Pakan tinggi lemak akan meningkatkan profil lemak tubuh. Peningkatan LDL dapat mempengaruhi pada peningkatan kadar MDA serum atau jaringan (Arkhaesi, 2008). Pada induksi aloksan akan menyebabkan suatu kondisi dimana mekanisme aksi aloksan akan berikatan dengan 2 grup sulfhidril pada sugar binding site dari glukokinase sehingga membentuk ikatan disulfida. Akibatnya aloksan akan direduksi dan membentuk asam dialuronat yang kemudian akan mengalami reoksidasi dan membentuk suatu siklus redoks yang akan melepaskan radikal bebas berupa superoksida. Radikal superoksida juga akan melepaskan Fe^{3+} dari ferritin dan direduksi menjadi Fe^{2+} begitu pula dengan HA^- dapat mereduksi ion ferri. Akhirnya radikal superoksida akan diubah menjadi hidrogen peroksida (Skudelski, 2001).

Pada siklus redoks, aloksan akan membentuk *reactive oxygen species* (ROS) dan radikal bebas yang berlebihan. Hal ini mengakibatkan stres oksidatif yang dapat merusak sel beta pankreas sehingga produksi insulin menurun (Inawati, 2006).

MDA meningkat karena ketidakseimbangan ROS yang diproduksi dan kadar antioksidan yang ada dalam tubuh. Terjadinya peroksidasi lipid dapat menyebabkan hilangnya permeabilitas dan integritas membran (Geva *et al*, 1998) Meningkatnya produksi ROS pada tikus yang diinduksi aloksan tidak hanya disebabkan oleh hiperglikemia, namun juga disebabkan oleh faktor yang lain seperti auto-oksidasi glukosa, produksi reactive oxygen species (ROS) yang berlebihan di mitokondria,

glikasi nonenzimatik, dan aktivasi jalur sorbitol (Lemos *et al.*, 2012). Pembentukan MDA sendiri diakibatkan oleh radikal bebas yang terbentuk karena proses peroksidasi lipid dan hidroperoksidasi lemak (Janero, 1990). Karena sifat radikal bebas yang tidak stabil dan sangat reaktif maka radikal bebas akan mencari pasangan untuk menstabilkan ikatannya dengan cara merebut elektron senyawa lain seperti molekul pada asam lemak tidak jenuh. Akibatnya senyawa yang kehilangan elektron akan menjadi sangat reaktif (Nabet, 1996). Senyawa yang kehilangan elektronnya akan menjadi sangat reaktif dan jika tidak segera distabilkan maka senyawa ini akan menarik makromolekul biologis disekitarnya sehingga makromolekul tersebut akan teroksidasi dan terdegradasi yang akan mengakibatkan kerusakan pada sel (Halliwell & Glutteridge, 1990).

Pembentukan radikal bebas dapat diredam dengan antioksidan. Antioksidan akan menjadi penerima elektron dari radikal bebas sehingga dapat menghambat proses oksidasi dalam mekanisme radikal bebas sehingga radikal lipid yang terbentuk akan distabilkan (Gordon, 1990)

Kandungan antioksidan yang dimiliki tumbuhan ketapang mampu menghambat peroksidasi lemak dengan memecah *peroxyl radical*. Senyawa fenol juga mampu menghambat *reactive oxygen species* (ROS) seperti radikal hidroksil, superoksida dan peroksininitrit (Chumark *et al.*, 2008). Flavonoid yang efektif sebagai scavenger akan mereduksi radikal peroksil supaya senyawa tersebut menjadi lebih stabil (Arora *et al.*, 1998). Flavonoid juga mampu mencegah oksidasi LDL dan menghambat aktivasi HMG Co-A Reduktase. Sedangkan vitamin C akan berperan dalam metabolisme lemak. Aktivitas senyawa antioksidan yang kuat mampu mencegah teroksidasinya LDL (Logu, 2005). Flavonoid bekerja sebagai donor H⁺ pada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat, menghambat aktivitas *HMG-CoA reductase* dan meningkatkan aktivitas SOD (Kandaswami & Middleton, 1997). Radikal antioksidan yang sudah distabilkan lewat resonansi di struktur cincin aromatiknya, sehingga tidak terlibat dengan reaksi radikal lain (Lee *et al.*, 2004).

Efek metabolik glibenklamid menyerupai sulphonylureas lainnya. Baik in vivo dan in vitro pelepasan insulin dari sel beta pankreas sehingga insulin meningkat, dan glukosa darah menurun (Loubatieres, 1969). Dalam penggunaan

klinis dosis tunggal glibenklamid harian dapat menyebabkan hipoglikemia pada beberapa pasien, perlu hati-hati dalam melembagakan terapi dengan glibenklamid. Efek buruk yang dilaporkan sejauh ini serangan hipoglikemia, lebih disebabkan oleh potensi daripada toksisitas. Karena efek hipoglikemik ini disarankan obat harus digunakan hanya pada pasien yang gagal pengobatan dengan diet dan salah satu obat sulfonilurea lain (Beyer, 1970).

Dari hasil penelitian didapatkan rerata malondialdehida pankreas dari kelompok yang tidak diberi perlakuan sebesar 417,38 nmol/g, kelompok yang diinduksi aloksan dan diberi diet tinggi lemak 1318,75 nmol/g, kelompok perlakuan yang diberi glibenklamid 915,38 nmol/g dan kelompok yang diberi ekstrak ketapang 1267,25 nmol/g. Hal ini menunjukkan adanya kecenderungan penurunan kadar MDA jaringan pankreas dengan hasil uji statistik yang tidak bermakna.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan induksi aloksan dan pemberian diet tinggi lemak pada hewan coba meningkatkan kadar MDA jaringan pankreas secara signifikan. Pemberian ekstrak ketapang cenderung menurunkan kadar MDA jaringan pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak dan diinduksi aloksan secara tidak bermakna. Pemberian glibenklamid menurunkan kadar MDA pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diberi diet tinggi lemak dan diinduksi aloksan secara bermakna.

DAFTAR PUSTAKA

- American Diabetes Association (ADA). 2015. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. P. 11
- Arkhaesi, Nahwa. 2008. Kadar Malondialdehida (MDA) Serum sebagai Indikator Prognosis Keluaran pada Sepsis Neonatorum. Tesis. Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Anak Universitas Diponegoro, Semarang.

- Arora A, M.G Nair, G.M Strasburg. 1998. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radic. Biol & med.* 24 (9) : 1355-1364.
- Baroroh F, Aznam N, Susanti H. 2011. Uji Efek Antihiperlikemik Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia Augusta*, Merr) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Journal UAD. Pharmacia*. 43-53.
- Beyer, J., and Schoffling, K., *Postgraduate Medical Journal*, 1970, 46, December Supplement, p. 78.
- Budiarto, E. 2004. *Metodologi Penelitian Kedokteran*. Jakarta : EGC
- C.C. Lin, Y. L. Chen, J. M. Lin and T. Ujiie,. 1997. "Evaluation of the Antioxidant and Hepatoprotective Activity of catappa," *American Journal of Chinese Medicine*. 25 (2) : 153.
- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivtong-ngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Pongrapeeporn, K., 2008, The In Vitro and Ex Vivo Antioxidant Properties, Hypolipidaemic And Antiatherosclerotic Activities of Water Extract of *Moringa oleifera* Lam Leaves, *Journal Ethnopharmacol.* 116 : 439-446.
- Geva E, Lessing JB, Lerner-Geva, Amit A. 1998. Free radical, antioxidant, and human spermatozoa : clinical implications. *Hum. Reprod.* 13 (6) : 1412-1424.
- Gordon M.H. 1990. The mechanism of antioxidants action in vitro. Dalam Hudson B.J.F.(Ed). *Food Antioxidant*. Elsevier Applied Science London-New York. P.1-18.
- Halliwell B, J.M.C Gutteridge. 1990. Role of free radical and catalytic logam ions in human disease : An overview. *Meth. Enzymol.* 186 : 1-84.
- Inawati, Syamsudi, Hendiq W. 2006. Pengaruh Ekstrak Daun Inai (*Lawsonia inermis* Linn).Terhadap Penurunan Kadar Glukosa, Kolesterol Total dan Trigliserida Darah Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Kimia Indonesia*.
- Janero DR. 1990. Malondialdehyde and thiobarbiturat acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*.
- Kandaswami, C and Middleton, E. 1997. Flavonoids as antioxidant, In F. Shahidi

- (Ed). Natural Antioxidant Chemistry, Health Effect and Applications. Champaign Illions : AOCS Press.
- L. Z. Xu, J. Gao, L. Zhu, M. Xu, S. Y. Lu, X. N. Zhao and Z. X. Zhang. 2000. "Protective Effects of LR-98 on Hepa-totoxicity Indu Carbon Tetrachloride and D-Galac in Mice," Journal of Nanjing University of Natural Science.
- Lee J, N. Koo, D.B Min. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative neutraceuticals. Compre Rev. In Food Sci and Food Safety. 3 : 21-33.
- Lemos, M.R.B., Siqueira, E.M.A., Arruda, S.F., Zambiasi, R.C., 2012. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog.). Food Res.
- Ling Z, Wang Q, Stange G, Veld PI, Pipeleers D. 2006. Glibenclamide treatment recruits β cell subpopulation into elevated and sustained basal insulin synthetic activity. Diabetes.
- Logu, T. 2005. Electrophoresis in Gels dalam Jan Christer Jason & Lary Ryden (Eds), Protein Purification : Principles, High-Resolution Methods, and Application, 2nd edition, John Wiley & sons, Inc., Publication, New York. 464-469.
- Loubatieres, A., et al. 1969. in Hormone and Metabolic Research, Supplement, Vol. 1. 157-161.
- Mahreen, Rashida M, Mohsin, Zahida N, M Siraj, M Ishaq. 2010. significantly increased levels of serum malonaldehyde in type 2 diabetics with myocardial infarction. *Int J Diabetes Dev Ctries*.30 (1) : 49-51.
- McLetchie. 2002. Alloxan Diabetes, A Discovery, Albeit A Minor One. JR Coll Physician Edinb. 45 : 1542-9.
- Moussa, S.A. 2008. Oxidative Stress In Diabetes Mellitus. Romanian J. Biophys. 18 (3) : 225-236.
- N. Y. Chiu and K. H. Chang. 1998. The Illustrated Medicinal Plants of Taiwan. Vol. 1. SMC Publishing Inc., Taipei. 35 : 551-555.
- N. Nagappa, P. A. Thakurdesai, N. V and J. Singh. 2003. "Antidiabetic Activity of Terminalia catappa Linn Fruits," Ethnopharmacology. 88 (1) 45-50.
- Nabet F.B. 1996. Zat gizi antioksidan penangkal senyawa radikal pangan dalam sistem biologis. Dalam Zakariya F.R, R. Dewanti, S. Yasni (Ed) : Prosiding

- Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan : Reaksi Biomolekular, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dengan Kedutaan Perancis. Jakarta.
- Nugroho AE. 2006. Hewan percobaan diabetes melitus: Pathology mekanisme aksi diabetogenik. Biodiversitas. Vol.7 No.4, 2006: 378-382.
- Samuel, Vivian., Smilee Johncy. 2010. Evaluation of Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Diabetes with and without Complications. J Biomed Sci and Res. 2 (3) : 162-166.
- Suharmiati. 2003. Pengujian bioaktivitas anti diabetes melitus tumbuhan obat. Cermin Dunia Kedokteran No. 140
- Szkudelski, T. 2001. 'The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas'. P. 216-218.
- Tiwari BK, Pandey KB, Abidi AB, Rizvi SI. 2013. Marker oxidative stress during diabetes melitus. Journal of Biomarkers. 2 : 37-43.
- Widia, Sri. 2009. Oxidative Stress In Liver Tissue Of Rat Induced by Chronic System Hypoxia. Makalah Kesehatan. 13 (1) : 34-38.
- World Health Organization .1994. Prevention of diabetes militus.
- Yang RL, Shi YHS, Li G, Le G. 2008. Increasing oxidative stress with progressive hyperlipidemia in human : relation between malondialdehyde and atherogenic index. J Clin Biochem Nutr.43 (3) : 154-158.