

Efek Kombinasi Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis, dan Temulawak terhadap Kadar Superoxide Dismutase (SOD) dan Malondialdehyde (MDA) Serum Tikus Model Hiperglikemia

Indira Wahyu Sukma Syarif^{*}, Sri Herlina^{*}, Dini Sri Damayanti^{*}

^{*}*Medical Faculty of Malang Islamic University*

Email: indirasyarifa95@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Chronic hyperglycemia caused diabetes mellitus (DM). Flavonoids are the main active ingredients which have a combination of *sambiloto* leaves, *salam* leaves, cinnamon, and *temulawak* which have an antioxidant effects. The purpose of this study was to prove the antioxidant effects on increased of superoxide dismutase (SOD) and decreased of malondialdehyde (MDA) serum levels.

Method: The study design was in vivo laboratory experimental, using a control group post test only design in 2-3 months old male wistar (*Rattus norvegicus*). The subjects were divided into hyperglycemia groups (KP, T1: 250 mg/kgBW, T2: 250 mg/kgBW, and T3: 500 mg/kgBW) and negative control groups (KN). Rats were adapted for 7 days and then induced low-dose streptozotocin (STZ) (25 mg/kgBW) and 10% High Fructose Diet (HFD). The combination of *sambiloto* leaves, *salam* leaves, cinnamon, and *temulawak* is administered per stomach sonde for 30 days after the condition of hyperglycemia (GDP ≥ 126 g/dl). Examination of SOD serum levels using a spectrophotometer λ 580 nm and MDA serum levels using a spectrophotometer λ 532.8 nm. Data analysis using One-Way ANOVA with significance $p < 0.05$.

Results: Administration of *sambiloto* leaves, *salam* leaves, cinnamon, and *temulawak* in the treatment group (T1, T2, and T3) than KP showed an increase in SOD at a dose of 250 mg/kgBW, while decreasing of MDA occurred at a dose of 125 mg/kgBW.

Conclusion: The results of *sambiloto* leaves, *salam* leaves, cinnamon, and *temulawak* combination showed a p value of < 0.05 which showed a significant effect on SOD and MDA serum levels in the hyperglycemic rats.

Keyword: Hyperglycemia, herbal combination, SOD, MDA

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) masih menjadi permasalahan kesehatan di dunia yang mengakibatkan hiperglikemia¹. Menurut Riskesdas (2013) Indonesia mengalami peningkatan jumlah penyandang diabetes dari 5,7% pada tahun 2007 menjadi 6,9% pada tahun 2013 atau sekitar 9,1 juta penderita. Menurut data *sample registration survey* tahun 2014 diabetes adalah penyebab kematian ketiga terbesar di Indonesia. Data International Diabetes Federation memperkirakan jumlah penyandang diabetes Indonesia sebesar 10 juta pada tahun 2015².

Hiperglikemia kronis mengakibatkan stres oksidatif akibat peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas. Kondisi stres oksidatif mengakibatkan peroksidasi lipid pada sel yang menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA). Peningkatan MDA dalam serum bisa diakibatkan karena kerusakan eritrosit, leukosit, maupun sel dinding pembuluh darah. ROS yang meningkat

mengakibatkan penurunan antioksidan endogen yaitu *Superoxide Dismutase* (SOD) sebagai *scavenger anion superoxide* pada hasil oksidasi dalam metabolisme sel³.

Penderita DM dilaporkan mengalami penurunan aktivitas antioksidan endogen salah satunya yaitu SOD^{4,5}. Terbukti pada tikus putih dalam keadaan stres oksidatif mengalami penurunan kadar SOD dalam serum, hati, testes, dan jantung⁶.

Terapi untuk penderita DM tipe 2 dimulai dari pengaturan makanan atau latihan jasmani dan obat anti diabetes (OAD) yang memiliki banyak efek samping antara lain diare, kenaikan berat badan, hipoglikemia, bahkan reaksi imun⁷.

Saat ini banyak konsumsi herbal tunggal atau campuran sebagai obat tradisional untuk pengobatan antidiabetes pada masyarakat, namun belum banyak penjelasan ilmiah tentang obat tradisional. Salah satu obat tradisional yang digunakan masyarakat adalah tanaman sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak. Secara

empirik tanaman sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak sudah digunakan semenjak nenek moyang kita sebagai obat tradisional untuk mengatasi hiperglikemia. Sambiloto (*Andrographis paniculata*), daun salam (*Syzygium polyanthum*), dan kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) memiliki kandungan fitokimia flavonoid, fenol, sinamaldehid, dan eugenol yang memiliki efek sebagai antioksidan serta Kandungan kurkuminoid dan fenol yang dimiliki oleh temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) berpotensi sebagai antioksidan^{8,9,10,11}. Penelitian pra klinis yang telah dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu (B2P2TOOT) oleh Rahmawati *et al* (2014) membuktikan bahwa kombinasi sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak aman dan tidak toksik pada tikus. Saat ini ramuan tersebut dikembangkan untuk diteliti pemanfaatannya sebagai herbal terstandart antidiabetes.

Berdasarkan dari uraian diatas penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek antioksidan dari ramuan sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak sebagai antidiabetes pada hewan coba tikus model hiperglikemia yang diinduksi STZ (*Streptozotocin*) dosis rendah *multiple doses* dan diet tinggi fruktosa terhadap peningkatan *superoxide dismutase* (SOD) dan *malondialdehyde* (MDA).

M E T O D E

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan *control group post test only design*.

Pelaksanaan penelitian berada di *Animal House* dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Laboratorium Faal Fakultas Universitas Brawijaya Malang. Lama penelitian berlangsung dari bulan Januari 2018 hingga bulan Juli 2018. Penelitian ini telah mendapatkan surat layak etik oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor 856-KEP-UB pada tanggal 5 Desember 2017.

Sampel Penelitian dan Pengelompokan Sampel

Jumlah sampel penelitian didapatkan melalui perhitungan dengan rumus *Federer* $(n-1)(t-1) \geq 15$ yang dibagi menjadi 5 kelompok sehingga didapat 5 (lima) ekor untuk tiap kelompok, yang terdiri dari kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3) dan total jumlah tikus ada 25 ekor.

Adapun kriteria inklusi adalah tikus jantan, umur Sampel menggunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 120-200 gram, tidak ada cacat anatomi atau

sakit, sedangkan kriteria eksklusi adalah tikus mati. Sampel tersebut kemudian diaklimatisasi selama 7 hari dan diberi makan dan minum standart laboratorium.

Induksi Hiperglikemia

Tikus diinduksi dengan *streptozotocin* (STZ) dengan dosis rendah 25 mg/kgBB berulang yang dilarutkan dalam *buffer* sitrat 2 ml/dosis dengan pH 4,5 0,05 M melalui *intraperitoneal* dan *high fructose diet* (HFD) 10% selama 14 hari. Tikus dinyatakan hiperglikemia apabila kadar glukosa darah puasa ≥ 126 g/dl¹².

Pemberian Kombinasi Herbal Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis dan Rimpang Temulawak

Kombinasi herbal dibuat dengan merebus simplisia daun sambiloto 5 gram, daun salam 3 gram, kayu manis 1 gram, dan temulawak 3 gram menggunakan pelarut air dengan perbandingan 1:10 pada suhu 90°C selama 10 menit^{13,14}. Rebusan lalu dievaporasi pada suhu 80°C hingga volume menjadi 1/3 volume awal, kemudian dioven pada suhu 45 °C hingga menjadi pasta. Pasta (ekstrak) dibagi menjadi 3 dosis untuk 3 kelompok dengan dosis 125 mg/kgBB pada P1, 250 mg/kgBB pada P2, dan 500 mg/kgBB pada P3 yang diberikan pada tikus secara sonde lambung dengan mencampurkan air 2 ml per sonde selama 30 hari¹⁵.

Pengambilan Sampel Darah

Tikus difiksasi dalam posisi supinasi yang kemudian dilakukan anastesi dengan ketamin 40 mg/kgBB *intramuscular* (IM). Pembedahan dilakukan menggunakan gunting bedah secara vertikal mengikuti linea media dari abdomen menuju ke toraks sampai terbuka seluruhnya¹⁶. Darah diambil dari jantung sebanyak 5 cc yang dimasukkan pada vacutainer non EDTA untuk pemeriksaan serum. Vacutainer non EDTA didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum¹⁷.

Pemeriksaan Kadar SOD Serum

Serum diambil sebanyak 1 ml setiap kelompok dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit lalu diambil *supernatant* setiap kelompok (sampel). Sampel setiap kelompok diambil sebanyak 100 µl kemudian diberi larutan xanthine 100 µl, xantin oksidase 100 µl, *nitro blue tetrazolium* (NBT) 100 µl, dan *phospat buffered saline* (PBS) 100 µl. Menambahkan kembali PBS hingga 2000 µl. Sampel diinkubasi dengan suhu 30°C selama 30

menit hingga warna berubah menjadi ungu. Hasilnya diukur dengan alat spektrofotometer UV dengan λ 580 nm yang hasilnya akan dimasukkan ke dalam rumus *Lambert-Beer* untuk menentukan kadar dalam satuan ng/dL¹⁷.

Pemeriksaan Kadar MDA Serum

Serum diambil sebanyak 1 ml setiap kelompok dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit lalu diambil *supernatant* setiap kelompok (sampel). Sampel setiap kelompok diambil sebanyak 100 μ l lalu ditambahkan larutan TCA 100% 100 μ l, Na Thio 1% 100 μ l, HCl 1N 250 μ l, dan *aquades* 450 μ l. Sampel kemudian diinkubator dengan suhu 100°C selama 10 menit dan terjadi perubahan warna menjadi merah muda dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit dan ambil *supernatant*, kemudian ditambahkan *aquades* hingga 3500 μ l (700 μ l *supernatant* + 2800 μ l *aquades*). Hasilnya diukur dengan spektrofotometer UV dengan λ 532,8 nm yang

hasilnya akan dimasukkan ke dalam rumus *Lambert-Beer* untuk menentukan kadar dalam satuan ng/dL¹⁷.

Teknik Analisis Data

Data yang telah diperoleh diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Data yang terdistribusi normal dan homogen kemudian dilakukan uji statistik menggunakan metode *One Way ANOVA*. Hasil bermakna apabila $p < 0,05$. Analisa data dilakukan dengan menggunakan *software IBM SPSS statistics* versi 22.

HASIL DAN ANALISIS DATA

Karakteristik Sampel

Karakteristik sampel penelitian dapat dilihat pada **Tabel 1** menunjukkan gula darah puasa (GDP) tikus meningkat dengan pemberian STZ dan HFD 10%. Tikus mengalami hiperglikemia dengan GDP ≥ 126 g/dl dan mengalami penurunan setelah pemberian kombinasi herbal sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak.

Tabel 1 Karakteristik Sampel Penelitian.

Kelompok		KN	KP	P 1	P 2	P 3
Usia	Awal	2-3	2-3	2-3	2-3	2-3
(bulan)						
Rerata BB	Awal	221,80 $\pm$	151,60 $\pm$	165,20 $\pm$	223,60 $\pm$	173,40 $\pm$
(gram)		19,55	12,33	4,14	12,17	14,13
Rerata BB	BB	340,80 $\pm$	219,80 $\pm$	297,00 $\pm$	280,40 $\pm$	246,60 $\pm$
Akhir (gram)		33,43	26,87 ^{b,c}	19,27 ^b	26,40 ^d	11,37 ^a
Δ BB		119 $\pm$	68,2 $\pm$	131,8 $\pm$	56,8 $\pm$	73,2 $\pm$
		13,89	14,53	15,13	14,23	2,77
Rerata GDP	GDP	103,20 $\pm$	97,20 $\pm$	93,00 $\pm$	117,60 $\pm$	116,40 $\pm$
Awal Sebelum		14,93	3,15	9,48	1,63	11,50
Perlakuan						
Rerata GDP	GDP		169,20 $\pm$	205,60 $\pm$	281,80 $\pm$	136,00 $\pm$
Hiperglikemia			36,50	75,85	57,71	5,77
(mg/dL)						
Rerata GDP	GDP	97,80 $\pm$	98,80 $\pm$	96,60 $\pm$	156,40 $\pm$	117,60 $\pm$
Setelah		3,15	5,98	5,16	56,08	17,80
Perlakuan						

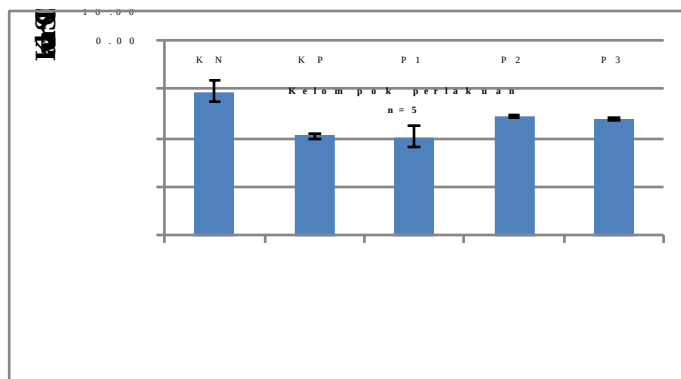
Keterangan :

Data dalam mean $\pm$ SE; KN, Kelompok negatif; KP, Kelompok positif; P1, Kelompok hiperglikemia + pemberian kombinasi sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak 125 mg/kgBB/hari; P2, Kelompok hiperglikemia + pemberian kombinasi sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak 250 mg/kgBB/hari; P3, Kelompok hiperglikemia + pemberian kombinasi sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak 500 mg/kgBB/hari. Notasi berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. a, berbeda signifikan terhadap KN; b, berbeda signifikan terhadap KP; c, berbeda signifikan terhadap P1; d, tidak berbeda signifikan terhadap KN, KP, P1, P2, dan P3.

Berat badan akhir pada kelompok mengalami penurunan secara signifikan pada kelompok KP dengan KN dan P1, P1 dengan KP, dan P3 dengan KP.

Kadar SOD Serum

Analisis rerata penelitian kadar SOD serum menunjukkan hasil sebagaimana tercantum dalam **Gambar 1** dibawah ini.



Gambar 1. Histogram rerata kadar SOD serum tikus hiperglikemia yang diberikan kombinasi sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak

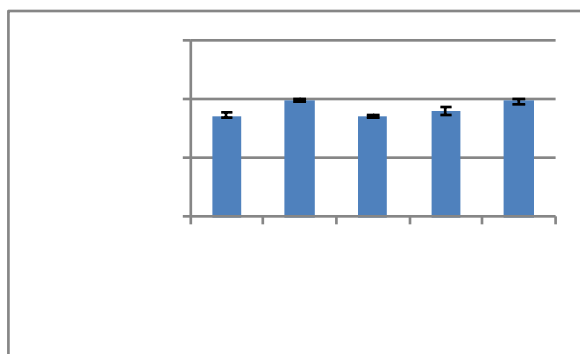
Keterangan :

Gambar 1 menunjukkan hasil rerata kadar SOD serum kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3). Data dalam mean $\pm$ SE. Terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar SOD serum tikus hiperglikemia ($p < 0.05$). Notasi berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Notasi: a, KN berbeda signifikan terhadap KP, P1, P2, dan P3; b, KP berbeda signifikan terhadap P2; c, P1 berbeda signifikan terhadap KN dan P2; d, P2 berbeda signifikan terhadap KN, KP, dan P1; e, P3 berbeda signifikan terhadap KN.

Kadar SOD pada KN sebesar 29,68 ng/ml, KP 20,56 ng/ml, P1 20,42 ng/ml, P2 24,50 ng/ml, dan P3 23,96 ng/ml. Berdasarkan hasil analisa statistik didapatkan bahwa kadar SOD pada KN lebih besar secara signifikan dibandingkan kelompok positif dan semua kelompok perlakuan. Kadar SOD pada KP lebih rendah secara signifikan dibandingkan P2. Kadar SOD antar perlakuan didapatkan bahwa P1 lebih rendah secara signifikan dibandingkan P2. P2 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan P3.

Kadar MDA Serum

Analisis rerata penelitian kadar MDA serum menunjukkan hasil sebagaimana tercantum dalam **Gambar 2**.



Gambar 2. Histogram rerata kadar SOD serum tikus hiperglikemia yang diberikan kombinasi

sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak

Keterangan:

Gambar 2 menunjukkan hasil rerata kadar MDA serum kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3). Data dalam mean $\pm$ SE. Terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar SOD serum tikus hiperglikemia ($p < 0.05$). Notasi berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Notasi: a, KN berbeda signifikan terhadap KP dan P3; b, KP berbeda signifikan terhadap KN, P1, dan P2; c, P1 berbeda signifikan terhadap KP dan P3; d, P2 berbeda signifikan terhadap KP dan P3; e, P3 berbeda signifikan terhadap KN, P1, dan P2

Kadar MDA pada KN sebesar 862,50 ng/ml, KP 996,00 ng/ml, P1 860,00 ng/ml, P2 911,50 ng/ml, dan P3 986,00 ng/ml. Berdasarkan hasil analisa statistik didapatkan bahwa kadar MDA pada KN lebih kecil secara signifikan dibandingkan KP dan P3. Kadar MDA pada KP lebih tinggi secara signifikan dibandingkan P1 dan P2. Kadar MDA antar perlakuan didapatkan bahwa P1 dan P2 lebih rendah secara signifikan dibandingkan P3.

Uji Korelasi Kadar Gula Darah Puasa dengan SOD Serum Tikus Hiperlikemia

Tabel 2. Uji Korelasi Kadar GDP dengan SOD Serum

			GDP	SOD
Spearman's rho	GDP	Correlati-on Coefficient	1,000	-0,127
		Sig. (2-tailed)	.	0,546
	N		25	25

Keterangan:

Tabel 2 menunjukkan uji korelasi *Spearman* kadar GDP dengan kadar SOD serum

Kadar GDP dengan kadar SOD serum memiliki nilai korelasi sebesar (-0,127) dan nilai signifikansi sebesar 0,546. Dengan demikian dapat disebutkan bahwa peningkatan kadar glukosa darah akan menurunkan kadar SOD dalam darah. Walaupun mungkin masih ada faktor-faktor lain yang berperan terhadap penurunan kadar SOD pada kondisi hiperglikemia.

Uji Korelasi Kadar Gula Darah Puasa dengan MDA Serum Tikus Hiperglikemia

Tabel 3. Uji Korelasi Kadar GDP dengan MDA Serum

			GDP	MDA
Spearman's rho	GDP	Correlati-on Coefficient	1,000	0,026
		Sig. (2-tailed)	.	0,902
	N		25	25

Keterangan:

Tabel 3 menunjukkan uji korelasi *Spearman* kadar GDP dengan kadar MDA serum

Berdasarkan uji korelasi *Spearman* kadar GDP dengan MDA memiliki hubungan sebesar 0,026 dan nilai signifikansi 0,902. Peningkatan kadar GDP mampu meningkatkan kadar MDA serum, walaupun ada beberapa faktor lain yang berpengaruh terhadap peningkatan MDA serum tikus.

Berdasarkan uji korelasi *Spearman* kadar GDP dengan MDA memiliki hubungan sebesar 0,026 dan nilai signifikansi 0,902. Peningkatan kadar GDP mampu meningkatkan kadar MDA serum, walaupun ada beberapa faktor lain yang berpengaruh terhadap peningkatan MDA serum tikus.

Uji Korelasi Kadar SOD Dengan MDA Serum Tikus Hiperglikemia

Tabel 4. Uji Korelasi Kadar SOD dengan MDA Serum

			MDA
SOD	Correlati-on Coefficient		-,280
	Sig. (2-tailed)		,176
	N		25

Keterangan:

Tabel 4 menunjukkan uji korelasi *Pearson* kadar SOD dengan kadar MDA serum

Berdasarkan uji korelasi *Pearson* hubungan kadar SOD dengan MDA memiliki korelasi sebesar (-0,280) dengan nilai signifikansi sebesar 0,176. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar SOD serum mampu meningkatkan kadar MDA serum. Namun ada faktor-faktor lain yang mampu mempengaruhinya.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan sebagai hewan coba. Usia yang dipilih untuk sekitar 2-3 bulan dengan berat badan 120-200 gram¹⁸. Penggunaan tikus wistar karena memiliki metabolisme yang sama dengan manusia dan mudah dalam pemeliharaan¹⁹. Strain wistar sensitif terhadap STZ¹². Penelitian ini menggunakan hewan coba sejumlah 25 ekor dengan masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor. Aklimatisasi sebelum percobaan dilakukan selama 7 hari²⁰.

Induksi menggunakan HFD 10% karena HFD terbukti menginduksi metabolik sindrom dan *oxidative disorder* dengan cepat dan STZ 25mg/kgBB sebagai induksi tikus model diabetes²¹. Induksi tersebut memberikan efek hiperglikemia pada tikus kontrol positif dan perlakuan dengan rerata gula darah puasa (GDP) berkisar antara 136-182 mg/dl mengacu pada **Tabel 1**.

Ekstrak diberikan dengan cara sonde lambung dilakukan pada kelompok perlakuan satu hari sekali dalam 30 hari (Putra et al). Dosis ekstrak didapatkan dari racikan yang sering digunakan peramu jamu untuk obat antidiabetes di B2P2TOOT, yang kemudian dikonversikan dari dosis manusia. Dosis terbagi atas 3 yaitu 125 mg/kgBB untuk P1, 250 mg/kgBB untuk P2, dan 500 mg/kgBB untuk P3. Setelah 30 hari pemberian herbal didapatkan rerata GDP mengalami penurunan sebesar 96-157 mg/dl mengacu pada **Tabel 1**^{15,22}. Peningkatan berat badan

pada kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan adanya perlemakan pada subkutan akibat induksi STZ dan HFD³.

Efek Pemberian Kombinasi Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis, dan Temulawak Terhadap Kadar SOD Serum Tikus Hiperglikemia

Berdasarkan uji statistik *One Way ANOVA* didapatkan perbedaan yang signifikan antara kadar SOD serum terhadap kelompok penelitian ($p < 0,05$) setelah diberikan kombinasi herbal selama 30 hari. Kadar SOD serum KP lebih rendah dibandingkan dengan KN. Induksi STZ dan HFD 10% mampu menurunkan kadar SOD serum pada kelompok positif dan perlakuan. Hal itu terjadi karena STZ bekerja meningkatkan produksi radikal bebas dalam sel yang mengaktivasi protein kinase C (PKC) dan *advanced glycosylated end-products* (AGEs) yang dapat merusak sel β pankreas sehingga produksi insulin akan terganggu²⁴. HFD akan dimetabolisme di hepar melalui fruktolisis dan berubah menjadi glukosa dan HFD merupakan kontributor utama terjadinya resistensi insulin²⁵. Kedua hal tersebut menyebabkan peningkatan glukosa dalam darah yang mampu meningkatkan autoglikasi glukosa dan membentuk ROS. Produksi ROS yang tinggi mampu melemahkan pertahanan SOD dan jumlahnya menjadi menurun²⁶.

Perbedaan signifikan terjadi pada KP dengan P2. Dosis P2 yang paling berperan dalam peningkatan kadar SOD serum tikus hiperglikemia dengan dosis 250 mg/kgBB terlihat pada **Gambar 1**. Efek tersebut diduga disebabkan efek kandungan bahan aktif dalam ekstrak kombinasi herbal. Kombinasi herbal sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak memiliki kandungan flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan yang bekerja mengeliminasi *anion superoxide* (O_2^-) dengan mendonorkan ion hidrogen dan meningkatkan ekspresi gen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor* (Nrf2) yang memproduksi antioksidan endogen seperti SOD^{27,29}

Hal tersebut mampu menetralisir radikal bebas dan menurunkan ROS yang mampu meningkatkan kadar SOD serum²⁸.

SOD serum pada KP tidak berbeda dengan P1. Karena dosis yang diberikan belum optimal untuk meningkatkan SOD serum. Pada P2 dan P3 juga tidak berbeda mungkin karena membutuhkan dosis herbal lebih dari 500 mg/kgBB untuk meningkatkan kadar SOD serum lebih banyak. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2015) yang menunjukkan pada dosis 491,4 mg/200g BB infusa herbal sambiloto, salam, kayu manis, dan temulawak mampu menurunkan kadar glukosa darah yang mana penurunan glukosa darah mampu meningkatkan kadar SOD¹⁵. Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Amira (2017) menunjukkan bahwa sambiloto pada

dosis 1000 mg/kgBB merupakan dosis terbaik dalam peningkatan kadar SOD³⁴.

Efek Pemberian Kombinasi Sambiloto, Daun Salam, Kayu Manis, dan Temulawak Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Hiperglikemia

Berdasarkan uji statistik *One Way ANOVA* didapatkan perbedaan yang signifikan antara kadar MDA serum terhadap kelompok penelitian ($p < 0,05$) setelah diberikan kombinasi herbal selama 30 hari. Kadar MDA serum pada KP lebih tinggi dibandingkan KN yang menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA serum akibat induksi STZ dan HFD 10%. STZ masuk ke dalam sel β pankreas dan merusaknya yang mengakibatkan peningkatan resistensi insulin²³. HFD menjadikan resistensi insulin dan fruktosa yang terkandung akan menjadi glukosa melalui proses fruktolisis³⁰. Sehingga kadar glukosa darah meningkat dapat mengalami autoglikasi yang akan menghasilkan radikal bebas atau ROS. ROS akan menyebabkan stres oksidatif dan merusak membran lipid dari sel dengan reaksi peroksidasi lipid yang menghasilkan MDA³¹.

Perbedaan signifikan pada kelompok P3 dengan P1 dan P2. Dosis P3 yang paling berperan dalam menurunkan kadar MDA serum tikus hiperglikemia dengan dosis 500 mg/kgBB terlihat pada **Gambar 2**. Komponen keempat herbal ini yang memiliki kandungan zat aktif yang berefek menurunkan radikal bebas melalui penurunan absorpsi glukosa oleh *Methylhidroxy Calcone Polymer* (MHCP) dari temulawak, penurunan kadar glukosa darah oleh kandungan *andrographolide* dan kurkumin, peningkatan sekresi insulin dan antioksidan oleh daun salam dan kayu manis^{32,33,34}. Kandungan flavonoid, fenol, dan polifenol berperan sebagai *scavenger hydrogen peroxide* (H_2O_2) sehingga H_2O_2 tidak bereaksi lebih lanjut menjadi radikal hidroksil (OH^-). Radikal bebas yang terhambat menyebabkan peroksidasi lipid tidak akan terjadi sehingga menurunkan kadar MDA serum tikus hiperglikemia^{35,36}.

Hubungan Kadar Gula Darah Puasa dengan SOD Serum Tikus Hiperglikemia

Berdasarkan hasil uji statistik korelasi *Spearman* antara kadar gula darah puasa tikus dengan kadar SOD serum tikus hiperglikemia terdapat hubungan yang lemah sebesar (-0,173) dan tidak signifikan ($p > 0,05$) terlihat pada **Tabel 2**.

Uji korelasi negatif menunjukkan adanya hubungan terbalik antara kadar glukosa darah dengan kadar SOD serum. Semakin rendah kadar SOD serum maka kadar glukosa darah semakin tinggi. Nilai r hitung yang tidak mendekati angka satu

menunjukkan adanya hubungan yang lemah. Penurunan kadar SOD serum pada hasil penelitian ini bukan hanya dipengaruhi oleh peningkatan kadar glukosa darah, namun bisa dipengaruhi oleh peningkatan lipid dalam darah. Keadaan hiperkolesterolemia mampu menjadikan kondisi stres oksidatif. Ditandai dengan radikal bebas yang meningkat dan penurunan SOD³⁷.

Hubungan Kadar Gula Darah Puasa dengan MDA Serum Tikus Hiperglikemia

Berdasarkan hasil uji statistik korelasi *Spearman* antara kadar gula darah puasa tikus dengan kadar MDA serum tikus hiperglikemia terdapat hubungan yang lemah sebesar 0,026 dan tidak signifikan ($p > 0,05$) terlihat pada **Tabel 3**. Pemberian kombinasi herbal sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia. Penelitian ini membuktikan bahwa kadar *Malondialdehyde* (MDA) serum tikus juga mengalami penurunan secara signifikan setelah pemberian kombinasi herbal selama 30 hari.

Uji korelasi antara kadar GDP dengan MDA serum memiliki hubungan positif. Semakin tinggi kadar GDP maka semakin tinggi kadar MDA serum. Nilai r hitung yang tidak mendekati angka satu menunjukkan hubungan yang lemah. Peningkatan kadar MDA serum tidak hanya dipengaruhi oleh gula darah dalam darah namun juga akibat lipid dalam darah. Hiperkolesterolemia dalam jangka panjang menyebabkan produksi ROS meningkat yang kemudian akan mendegradasi lemak tak jenuh ganda membentuk MDA. MDA yang tinggi akibat dari ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas yang kemudian menjadi stres oksidatif^{37,38}.

Korelasi Kadar SOD Dengan MDA Serum Tikus Hiperglikemia

Berdasarkan uji korelasi statistik *Pearson* antara kadar SOD dengan MDA serum tikus hiperglikemia terdapat hubungan yang sedang sebesar (-0,280) dan tidak signifikan ($p > 0,05$) terlihat pada **Tabel 4**. Uji korelasi antara kadar GDP dengan MDA serum memiliki hubungan negatif yang menunjukkan adanya hubungan terbalik. Semakin tinggi kadar SOD maka kadar MDA semakin rendah. Nilai r hitung menunjukkan adanya hubungan sedang antara keduanya.

Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Desai (2015) yang membuktikan bahwa kadar peningkatan kadar SOD diikuti penurunan kadar MDA pada tikus diabetes yang diinduksi *streptozotocin* setelah pemberian zat yang memiliki kandungan antioksidan³⁹. Hal yang sama juga dibuktikan oleh Setiawan (2016) adanya korelasi antara peningkatan kadar SOD yang diikuti penurunan kadar MDA pada tikus keadaan stres

oksidatif setelah pemberian zat yang mengandung antioksidan³⁷. Pada penelitian ini kombinasi herbal yang diberikan memiliki kandungan antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas sehingga peroksidasi lipid akan terhambat menjadikan kadar MDA menjadi turun dan kadar SOD menjadi meningkat³⁹. Hubungan yang tidak signifikan diduga karena ada beberapa antioksidan lain yang bekerja selain SOD, yaitu glutathione peroksidase (GPx) dan katalase (CAT). Penelitian ini hanya mengukur SOD karena dianggap sebagai pertahanan primer dalam menangkal radikal bebas⁴⁰.

SIMPULAN

1. Pemberian kombinasi sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) serum tikus hiperglikemia secara signifikan pada dosis 250 mg/kgBB.
2. Pemberian kombinasi sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak menurunkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) serum tikus hiperglikemia secara signifikan pada dosis 125 mg/kgBB.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, guna pengembangan lebih lanjut peneliti menyarankan melakukan penelitian untuk mengetahui efek antioksidan kombinasi herbal sambiloto, daun salam, kayu manis, dan temulawak dengan antioksidan konvensional yang beredar dipasaran dalam mencegah komplikasi dari Diabetes Melitus (DM).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian, dr. Rahma Triliana, M.Kes, Ph.D sebagai *reviewers* jurnal, dan Prof. dr. H. M. A. Aris Widodo, M.S, SpFK, Ph.D yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kemenkes RI. 2014. Infodatin Pusat Data dan Informasi Kesehatan RI. <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/infodatin-diabetes.pdf>, 12 Desember 2017 (09.00).
2. Kemenkes RI. 2016. Menkes: Mari Kita Cegah Diabetes Dengan Cerdik. http://www.depkes.go.id/article/view/1604070000_2/menkes-mari-kita-cegah-diabetes-dengan-cerdik.html, 24 Agustus 2018 (21.26).
3. Aripahsa, A., Andriana, D., Purnomo, Y., 2015. Efek Dekok Daun Pulutan (*Urena Lobata*)

- Terhadap Kadar Sod (Superoxyde Dismutase) Dan Mda (Malondialdehyde) Serum Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe II, *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 3(1).
4. Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J., & Ergul, A. 2005. Oxidative Stress and the Use of Antioxidants in Diabetes: Linking Basic Science to Clinical Practice. *Cardiovascular diabetology*, V4(1):5.
 5. Kumawat, M., Sharma, T. K., Singh, I., Singh, N., Ghahaut, V. S., Vardey, S. K., & Shankar, V. 2013. Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Type 2 Diabetes Mellitus Patients With and Without Nephropathy. *North American journal of medical sciences*, 5(3): 213.
 6. Mohajeri, D. 2013. Effects of *Solanum lycopersicum* L. on serum lipid profile and oxidative stress in liver tissue of high fat fed diet rats. *Life Sci.* J.10(3s).
 7. PERKENI, 2015, Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia 2015, PB. PERKENI.
 8. Hastuti, A. M., dan Ninik, R. 2014. Pengaruh Penambahan Kayu Manis Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Gula Total Minuman Fungsional Secang Dan Daun Stevia Sebagai Alternatif Minuman Bagi Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Journal of Nutrition College*, 3(3): 362-369.
 9. Sutrisna, EM., Trisharyanti, I., Rima, M., & Suprpto. 2015. Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun *Syzygium Polyanthum* (Wight) (Salam) Secara Invitro. *Biomedika*, 7(1): 7-10.
 10. Rais, I., R., 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Andrographis Paniculata* (Burm.F.) Ness Dengan Dua Perbedaan Penguapan. *Pharmaciana*, 6(1):95-100.
 11. Oktaviana, P., R., Kawiji., Atmaka, W., 2015. Kadar Kurkuminoid, Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) Pada Berbagai Teknik Pengeringan Dan Proporsi Pelarutan. *Biofarmasi*, 13(2): 41-49.
 12. Furman, B., L., 2015. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Scotland, United Kingdom, Strthclyde Institute of Pharmacy and Biomedical Sciens*, 70(1):5.47.1-5.47.20.
 13. Ahmad, FA, 2012, Analisis Penggunaan Jamu Untuk Pengobatan Pada Pasien Di Klinik Sainifikasi Jamu Hortus Medicus Tawamangu Tahun 2012, Tesis, Jakarta, Fakultas Kesehatan Masyarakat Program Pasca Sarjana Ilmu Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.
 14. Handayani *et al.*, 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Malang.
 15. Rahmawati, N., Dewi, A., P., K., Widiyastuti, Y., 2015. The Effects Of Combined Medicinal Plants Infusion On Blood Glucose, Cholesterol, And Triglyceride Levels In Hyperglycemic *Sprague-Dawley* Rats. *Effects Of Medicinal Plants On Metabolic Syndrome*, 6(2):99-104.
 16. Nurdiana. Efek 17 β -Estradiol terhadap densitas reseptor adrenergik- α 1D dan kontraktilitas otot polos pembuluh darah tikus. *J Ked Brawijaya*. 2008. 24(2):90- 6
 17. Laboratorium Ilmu Faal, 2018. Prosedur Analisa SOD & MDA. Laboratorium Ilmu Faal Div. Molekular. Universitas Brawijaya
 18. Pambudi, R., 2017. Perbedaan Panjang Serta Berat Tubuh Fetus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley Terhadap Pemberian Asam Folat Pada Periode Kehamilan Yang Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung Bandar Lampung.
 19. Tambunan, S. *et al.*, 2014. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*Rattus norvegicus strain wistar*) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. *Jom FK*, 2(1):1-14.
 20. Hasanah, A., 2015. Efek Jus Bawang Bombay (*Allium Cepa* Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi *Streptozotocin* (STZ), 10:2.
 21. Bagus *et al.* Potensi Dekok Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap Kadar Trigleserida (TG) dan Kolestrol Total (KT) Serum Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT-2). *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2015. 3(1)
 22. Samarghandian, S., *et al.*, 2017. Honey and Health : A Review of Recent Clinical Research. *Pharmacognosy Research*, 9(2):121-127.
 23. Firdaus., *et al.*, 2016. Model Tikus Diabetes Yang Diinduksi Streptozotocin-Sukrosa Untuk Pendekatan Penelitian Diabetes Melitus Gestasional. *Jurnal MKMI*, 12 (1): 29-34.
 24. Retnaningsih, C., *et al.*, 2013. Peningkatan Aktivitas Antioksidan Superoksida Dismutase Pada Tikus Hiperglikemi Dengan Asupan Tempe Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.). *AGRITECH*, 33 (2): 154-161.
 25. Zhang, Jiao, dan Kong. 2017. *High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Function*. *Nutrients*. 2017;9(335).
 26. Kartika, N., *et al.*, 2016. Pengaruh Pemberian Zn Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Kadar Superoksida Dismutase Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Kesehatan*, 1(1):61-70.
 27. Kamilatussaniah *et al.*, 2015. Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng Terhadap Kadar Tsa Dan Mda Tikus Putih Yang Diinduksi Timbal (Pb). *Jurnal MIPA*, 38(2):108-114.

28. Lukiaty, B., *et al.*, 2012. The Effects of Curcuma heyneana Ethanollic Extract on the Superoxide Dismutase Activity and Histological Pancreas of Type 1 Diabetes Mellitus Rats. *International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS*, 12 (2): 22-30.
29. Rifadatari, A., 2017. Studi Preventif Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) pada Tikus (*Rattus novergicus*) Model Sepsis Hati Induksi Lipopolisakarida Terhadap Aktivitas Enzim *Superoxida Dismutase* (SOD) dan Gambaran Histopatologi Duodenum. Tesis. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya
30. Prahastuti, N., Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia. *JKM*, 10(2):173-189.
31. Elida, S., *et al.*, 2014. Pengaruh suplementasi β -carotene terhadap kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus *sprague dawley* yang diinduksi *Streptozotocin*. *Jurnal Gizi Indonesia*, 2(2):41-46.
32. Chao, W., W., and Lin, B., F., 2010. Isolation And Identification Of Bioactive Compounds In *Andrographis Paniculata* (*Chuanxinlian*). *Chinnese Medicine*, 5(17):1-15.
33. Tjahjani, S., *et al.*, 2014. Efek Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha
34. Puspitayanti, I., R., 2017. Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase Oleh Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas*L). *Skripsi*, Program Studi Farmasi. Fakultas Farmasi UMS.
35. Febrinda, A., E., *et al.*, 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 24 (2): 161-167.
36. Rosidi, A., 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Stres Oksidatif Dan Kesegaran Jasmani Atlet. Disertasi. Ilmu Gizi Manusia. Sekolah Pascasarjana IPB.
37. Setiawan, D., I. *et al.*, 2016. Pemberian kecambah kacang kedelai terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan *superoxide dismutase* (SOD) tikus *Sprague Dawley* hiperkolesterolemia. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 13(1):20-26.
38. Rahma, S., *et al.*, 2014. Pengaruh Antioksidan Madu Dorsata Dan Madu Trigona Terhadap Penghambatan Oksidasi Ldl Pada Mencit Hiperkolesterolemia. *JST Kesehatan*, 4(4):377-384.
39. Desai, S., D., *et al.*, 2015. Effect of Thymoquinone on MDA and SOD levels in Sterptozotocine Induced Diabetic Albino Rats. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 7(8):523-526.
40. Kristina, H., *et al.*, 2016. Kadar Peroksida Lipid Dan Aktivitas Superoksida Dismutase Serum Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(1):1-11.