

**Efek Ekstrak Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap Kadar SOD
(*Superoxide Dismutase*) dan MDA (*Malondialdehyde*) Gaster Tikus Wistar yang
Diinduksi Indometasin**

Widya Novita, Dhanti Erma Widiyanti, Dini Sri Damayanti****

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email : widyanovita13@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Long-term use of NSAIDs (*Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs*) often causes peptic ulceration through the mechanism of inhibition of COX-1 and increased Reactive Oxygen Species (ROS). ROS triggers oxidative stress conditions that can be characterized by decrease SOD and increase MDA gastric level. Flavonoid compounds in the soursop leaf infusion extract (*Annona muricata* Linn) have antioxidant activity. This study to prove the effect of soursop leaf infusion extract on SOD and MDA levels induced-indomethacin gastric rats.

Method: Laboratory experimental research with control group design post test only in vivo using female wistar rats aged 8-10 weeks. The experimental group consisted of negative control (KN), indomethacin-induced positive control (KP) and the treatment group which was given soursop and indomethacin leaf infusion extracts (P1, P2, P3). Infusa is given for 7 days at a dose of 100 mg / kgb.wt, 200 mg / kgb.wt, 400 mg / kgb.wt. SOD and MDA gaster were measured through NBT and TBA resistance tests using colorimetric method with a spectrophotometer with a wavelength of 580 nm and 586 nm. Data analysis use *One Way ANOVA* test followed by *Post Hoc LSD Test* ($p < 0.05$).

Results: The results showed there were significant differences in SOD and MDA gastric levels between KP with P1 and P2 ($p < 0.05$). Infusion at P1, P2 and P3 was able to increase SOD gastric levels sequentially by $1\frac{1}{2}$, $1\frac{1}{4}$ and $\frac{1}{2}$ times and also able to decrease MDA gastric levels in P1 and P2 sequentially by $\frac{1}{4}$ and $\frac{1}{5}$ times compared to KP while MDA levels in P3 increased by $\frac{1}{5}$ times compared to KP.

Conclusion: Soursop leaf infusion extract was able to increase SOD and decrease MDA gastric level at dose of 100 mg / kgb. wt and 200 mg / kgb. wt.

Keywords: Soursop, SOD, MDA

PENDAHULUAN

Peptic Ulcer merupakan penyakit yang paling sering terjadi pada suatu populasi terutama pada pengguna NSAID jangka panjang¹. *Peptic Ulcer* adalah ulkus dengan gambaran bulat atau semi oval yang memiliki kedalaman > 5mm pada mukosa lambung. Penyakit ini ditandai dengan luka terbuka dan edema pada tepi serta indurasi yang dasarnya ditutupi oleh debris². Prevalensi *Peptic Ulcer* di Negara berkembang jauh lebih tinggi yakni mencapai 80-90% daripada di Negara maju yang mencapai 30-40%¹. Di Indonesia *Peptic Ulcer* masih menempati urutan ke-10 penyebab kematian pada kelompok umur 45-54 tahun dan sebanyak 2,7% terjadi pada laki-laki³. Angka kejadian *Peptic Ulcer* 48% disebabkan oleh infeksi *Helicobacter pylori* sedangkan 24% disebabkan karena penggunaan NSAID¹.

Penggunaan obat-obatan antiinflamasi non steroid (NSAID) seperti aspirin, naproxen, ibuprofen dan indometasin secara terus menerus dapat menghambat aktivitas dari COX-1⁴. COX-1 berfungsi sebagai perlindungan mukosa lambung dengan meningkatkan sintesa dan sekresi prostaglandin⁵. Apabila aktivitas COX-1 terhambat maka sintesis prostaglandin akan menurun sehingga menyebabkan sekresi mukus, bikarbonat, proliferasi sel epitel serta aliran darah pada

mukosa gaster akan menurun⁶. Hilangnya perlindungan mukosa lambung dapat menginduksi terjadinya kerusakan mukosa gaster yang memicu rekrutmen makrofag dan neutrofil ke jaringan gaster⁷. Proses ini menyebabkan terjadinya pengeluaran radikal bebas salah satunya $\text{OH}^\cdot$. Apabila $\text{OH}^\cdot$ berlebihan maka menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dimana $\text{OH}^\cdot$ akan bereaksi dengan PUFA sehingga menghasilkan alkanal seperti MDA. ROS yang berlebihan mengakibatkan antioksidan endogen seperti SOD banyak terpakai. Antioksidan ini bekerja dengan mengubah $\text{O}_2^\cdot$ menjadi H_2O_2 yang sifatnya kurang reaktif. Penggunaan SOD secara terus menerus mengakibatkan ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan endogen⁸.

Daun sirsak memiliki banyak kandungan diantaranya berupa steroid/terpenoid, flavonoid, kumarin, alkaloid, tannin, dan beberapa kandungan yang lainnya termasuk senyawa *annonaceous acetogenins*^{9,10,11}. Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dapat digunakan sebagai antiinflamasi dimana efek ini didapatkan dengan cara penghambatan pada enzim COX-2 sehingga proses pembentukan mediator inflamasi akan terhambat¹². Selain itu penelitian menyebutkan bahwa senyawa bioaktif yang terdapat pada herbal daun sirsak seperti steroid, flavonoid,

saponin, tannin dan polifenol mampu memberikan efek antioksidan dengan cara menampung radikal hidroksi dan superoksida yang nantinya digunakan untuk menangkalkan radikal bebas serta melindungi lipid membran¹³. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) mampu meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA pada hepar⁸.

Dari banyaknya manfaat daun sirsak tersebut membuat orang mulai beralih mengkonsumsi herbal daun sirsak sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan konvensional karena selain harga yang ekonomis daun sirsak juga mudah didapat dan tidak memberikan banyak efek samping seperti obat-obatan kimia¹¹. Banyak penelitian yang telah menguji efek herbal daun sirsak sebagai antioksidan akan tetapi belum ada penelitian yang menguji ekstrak infusa daun sirsak sebagai antioksidan yang aman terhadap gaster. Berlatarbelakang dari penjelasan tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa ekstrak infusa daun sirsak (*Annona muricata* Linn) mampu meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA gaster tikus wistar yang diinduksi indometasin.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *true eksperimental laboratorium* dengan desain penelitian *control group post test only* secara *in vivo*. Penelitian ini dilaksanakan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang untuk adaptasi hewan coba dan perlakuan, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembedahan hewan coba dan pemeriksaan kadar SOD dan MDA gaster. Penelitian dimulai pada bulan April- Mei 2018. Penelitian ini didapatkan dan disetujui secara etik oleh Ketua Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya pada tanggal 02 Januari 2018 dengan nomor 855-KEP-UB.

Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* strain wistar. Sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor yang terbagi menjadi 5 kelompok secara *random sampling* yang terdiri atas kelompok Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (KP) yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB, Perlakuan 1(P1) yang induksi indometasin 30 mg/kgBB dan infusa 100 mg/kgBB, Perlakuan 2 (P2) yang induksi indometasin 30 mg/kgBB dan infusa 200 mg/kgBB serta Perlakuan 3(P3) yang induksi indometasin 30 mg/kgBB dan infusa 400 mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

Pembuatan Ekstrak Infusa Daun Sirsak

Pembuatan ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode infundasi dengan perbandingan serbuk dan air 1:10. Serbuk simplisia kering diambil 100 gr dimasukkan ke dalam wadah, kemudian ditambah air sebanyak 1000 ml. Campuran tersebut diaduk dan diletakkan diatas panci besar berisi air. Rebus panci

besar tersebut diatas kompor dengan suhu 80-90 °C selama 10 menit. Hasil infusa sebanyak 750 cc disaring dengan kertas saring kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50 °C dengan kecepatan 50 rpm sampai volume menjadi 1/3 volume awal. Hasil proses evaporasi yang diperoleh adalah 250 cc. Selanjutnya hasil ini dioven pada suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak pasta sebesar 70 cc¹⁴. Ekstrak pasta yang dihasilkan ditimbang sesuai dosis dan berat badan tikus. Dosis yang digunakan adalah 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB. Setelah ditimbang, masing-masing dosis dilarutkan dengan air hingga volumenya mencapai 2cc. Ekstrak pasta ini diberikan pada tikus selama 7 hari¹⁵.

Pembuatan Hewan Coba Model Peptic Ulcer

Dosis indometasin yang digunakan untuk meginduksi *Peptic Ulcer* adalah 30 mg/kgBB¹⁶. Setelah tikus dipuasakan selama 18 jam pada akhir perlakuan, tikus diinduksi indometasin yang sudah dilarutkan dalam NaHCO₃ 5% hingga volume mencapai 2cc. Induksi indometasin diberikan pada KP, P1, P2, dan P3 secara peronde¹⁷. Penilaian ulkus dihitung berdasarkan jumlah ulkus dan keparahan ulkus. Nilai 1=tidak terdapat ulkus, nilai 2= jumlah ulkus 1, nilai 3= jumlah ulkus 2-4, nilai 4= jumlah ulkus 5-7, nilai 5= jumlah ulkus 8-10, nilai 6= jumlah ulkus >10 atau sudah terjadi perforasi. Sedangkan penilaian tingkat keparahan ulkus diantaranya nilai 1= tidak terdapat ulkus, nilai 2= adanya kemerahan atau panjang ulkus 0,5 mm, nilai 3= panjang ulkus 0,5-1 mm, nilai 4= panjang ulkus 1-1,5 mm, nilai 5= panjang ulkus 1,5-2 mm, nilai 6= panjang ulkus >2 mm atau sudah terjadi perforasi¹⁸.

Indeks tukak dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$U = U_n + U_s + U_p \times 10^{-1}$$

Keterangan :

U = indeks tukak

U_n = rata-rata jumlah tukak setiap hewan

U_s = rata-rata keparahan tukak

U_p = persentase hewan dengan tukak

Kriteria gaster tikus sudah mengalami ulkus bila terdapat jumlah ulkus minimal 1= nilai 2, ulkus dengan panjang minimal 0.5 mm = nilai 2 serta indeks ulkus minimal 4.5¹⁸.

Pengambilan Sample Hewan Coba

Tikus dianastesi menggunakan ketamin 5mg/kgBB IM. Kemudian tikus dibedah dan diinsisi secara vertikal pada bagian ventral mengikuti linea mediana dari thorak menuju abdomen. Omentum disisihkan dan gaster dibebaskan dari jaringan sekitarnya. Gastroesofageal dan pilorus diikat dengan benang lalu gaster dipotong. Jaringan gaster diinsisi di daerah kurvatura mayor lalu dibersihkan dan di siram pada bagian dalam dengan aquades. Jaringan gaster dimasukkan ke wadah yang sudah diberi label dan dikirim ke laboratorium untuk memeriksa kadar SOD dan MDA gaster.

K o m p o n e n	K e l o m p o k				
	K N	K P	P 1	P 2	P 3
J u m l a h t i k u s p e r k e l o m p o k	5	5	5	5	5
R e r a t a B B a w a l (g)	140.4 ± 18.99	142.2 ± 24.93	142.6 ± 21.14	141 ± 24.47	139.8 ± 21.00
R e r a t a B B a k h i r (g)	153.4 ± 24.59	157.8 ± 26.18	154.8 ± 22.26	152.6 ± 29.12	152.6 ± 22.35
R e r a t a j u m l a h u l k u s	0	5.60	4.60	4.80	5.00
R e r a t a t i n g k a t k e p a r a h a n u l k u s	0	6.00	5.20	6.00	6.00
R e r a t a i n d e k s u l k u s	0	12.10	10.3	11.30	11.50
J e n i s k e l a m i n	B e t i n a	B e t i n a	B e t i n a	B e t i n a	B e t i n a
U s i a - a w a l (m i n g g u)	8-10	8-10	8-10	8-10	8-10
L a m a a d a p t a s i (h a r i)	14	14	14	14	14
I n d u k s i i n d o m e t a s i n (m g / K g B B)	-	30	30	30	30
D o s i s e k s t r a k i n f u s a d a u n s i r s a k	-	-	100 m g / K g B B	200 m g / K g B B	400 m g / K g B B

Pemeriksaan Kadar SOD Gaster

Pemeriksaan kadar SOD dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri serta diukur dengan spektrofotometer. Pengukuran dilakukan dengan mengambil sampel gaster sebanyak 100 mg kemudian digerus sampai homogen. Setelah itu sampel ditambahkan PBS dan *protease inhibitor* hingga volume mencapai 2 cc. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan diambil sebanyak 200 µl kemudian ditambahkan dengan EDTA 100 µl, NBT 100 µl, *Xanthine* 100 µl dan *Xanthine Oxidase* 100 µl. Campuran tersebut diinkubasi dengan suhu 37 ° C selama 30 menit lalu disentrifugasi dan ditambahkan buffer fosfat hingga 3 cc kemudian diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 580 nm¹⁹.

Pemeriksaan Kadar MDA Gaster

Sampel gaster yang sudah digerus seperti metode diatas ditambahkan PBS dan EDTA sampai 2 cc. Campuran diambil sebanyak 200 µl kemudian ditambahkan HCL 250 µl, TCA 40% sebanyak 250 µl dan NaThio 1,34% sebanyak 200 µl. Setelah itu dipanaskan dengan air mendidih selama 25 menit. Setelah dingin campuran disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm. Hasil sentrifugasi diambil supernatannya dan ditambahkan aquabides hingga 3 cc kemudian dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 586nm¹⁹.

Teknik Analisa Data

Data yang didapatkan diuji normalitas dan homogenitas. Setelah itu dianalisis dengan menggunakan metode *One Way ANOVA*. Bila terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* menggunakan *LSD* untuk melihat perbedaan antar perlakuan. $p < 0,05$.

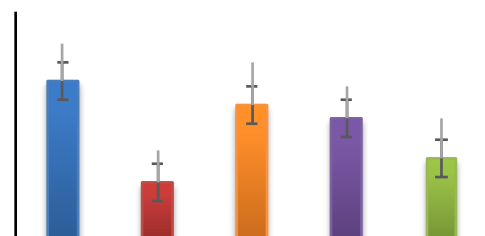
HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini karakteristik sampel penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Sampel

Efek Pemberian Ekstrak Infusa Daun Sirsak terhadap Kadar SOD Gaster Tikus Wistar Betina yang Diinduksi Indometasin

Hasil pengukuran kadar SOD gaster pada tikus model *peptic ulcer* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Rerata Kadar SOD Gaster

Keterangan: Dalam data rerata ± SD, $P < 0,05$ dibandingkan dengan kontrol positif. Notasi ^a:berbeda signifikan terhadap KP, P2 dan P3, ^b:berbeda signifikan terhadap KN, P1 dan P2, ^c:berbeda signifikan terhadap KP dan P3, ^d:berbeda signifikan terhadap KN, KP dan P3.

Hasil uji *One Way ANOVA* terdapat perbedaan yang signifikan kadar SOD gaster tikus *peptic ulcer* ($p < 0,05$). Dilihat dari hasil rerata didapatkan adanya penurunan rerata kadar SOD gaster tikus pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif sebesar 65,6%. Hasil rerata kadar SOD pada P1 dan P2 menunjukkan adanya peningkatan dibandingkan kelompok kontrol positif

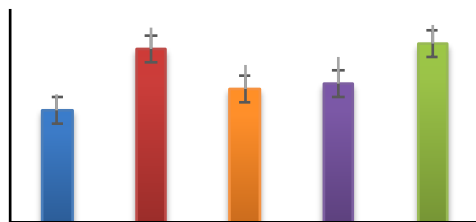
secara berurutan sebesar $1\frac{1}{2}$ dan $1\frac{1}{4}$ kali lipat dibanding KP dan berbeda

	M D A	S O D
Pearson Correlation	1	-.762**
Sig. (2-tailed)		.000
N	25	25

secara signifikan ($p < 0.05$). Rerata kadar SOD gaster pada P3 menunjukkan adanya peningkatan sebesar 46% tetapi tidak berbeda secara signifikan dibanding dengan KP ($p > 0.05$). Sedangkan antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan antara P1 dengan P3 dan P2 dengan P3 ($p < 0.05$).

Efek Pemberian Ekstrak Infusa Daun Sirsak terhadap Kadar MDA Gaster Tikus Wistar Betina yang Diinduksi Indometasin

Hasil pengukuran kadar MDA gaster pada tikus model *peptic ulcer* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Rerata Kadar MDA Gaster

Keterangan: Data dalam rerata $\pm$ SD, $P < 0,05$ dibandingkan dengan kontrol positif. Notasi ^a: berbeda signifikan terhadap KP dan P3, ^b: berbeda signifikan terhadap KN, P1 dan P2.

Hasil uji *One Way ANOVA* terdapat perbedaan yang signifikan kadar MDA gaster tikus *peptic ulcer* ($p < 0,05$). Dilihat dari hasil rerata didapatkan adanya peningkatan rerata kadar MDA gaster tikus pada kelompok kontrol positif dibanding dengan kelompok kontrol negatif sebesar 54,8%.

Hasil rerata kadar MDA gaster kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan dibandingkan kelompok kontrol positif secara berurutan sebesar 23,5% dan 20,2% serta berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Rerata kadar MDA gaster pada P3 menunjukkan adanya peningkatan sebesar 19,4% terhadap kelompok kontrol positif dan tidak berbeda secara signifikan ($p > 0.05$). Sedangkan antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antara P1 dengan P3 dan P2 dengan P3.

Hubungan Antara Kadar SOD (Superoxide Dismutase) dengan Kadar MDA (Malondialdehyde) Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin

Untuk mengetahui hubungan Kadar SOD dan MDA gaster tikus wistar dilakukan uji korelasi *Pearson*. Adapun hasil uji korelasi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Korelasi *Pearson* Kadar SOD dengan Kadar MDA Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin

Keterangan :

** menunjukkan signifikansi ($p < 0,05$)

Berdasarkan tabel 2 di atas, hubungan antara kadar SOD dengan kadar MDA gaster tikus wistar didapatkan nilai yang signifikan ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan terdapat hubungan yang bermakna antar kedua variabel penelitian. Jika dilihat dari besar korelasi *Pearson* antara kadar SOD dan kadar MDA gaster tikus wistar diperoleh nilai r -0,762. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan negatif / berlawanan antara kadar SOD dengan kadar MDA gaster tikus wistar dimana semakin menurun kadar SOD maka kadar MDA semakin meningkat. Sedangkan besar nilai korelasi tersebut masuk dalam kategori sangat kuat.

Hubungan Antara Jumlah Tukak dengan Kadar SOD dan MDA Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin

Jumlah tukak dengan kadar SOD gaster tikus wistar dilakukan uji korelasi *Spearman's* untuk mengetahui hubungan keduanya. Adapun hasil uji korelasi dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3 Uji Korelasi *Spearman's* Jumlah Tukak dengan Kadar SOD Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin

		S O D	J U M L A H T U K A K
Spearman's	Correlation	1.000	-.727**
	Coefficient		
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	25	25

Keterangan:

** menunjukkan signifikansi ($p < 0.01$)

Berdasarkan hasil uji korelasi *Spearman's* didapatkan hasil bahwa terdapat hubungan yang berlawanan antara jumlah tukak dengan kadar SOD gaster tikus wistar yang diinduksi indometasin. Artinya bahwa semakin menurun kadar SOD maka semakin tinggi jumlah tukak. Sedangkan nilai r hitung 0.727 menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara jumlah tukak dengan kadar SOD gaster. Sedangkan untuk mengetahui hubungan antara jumlah tukak

dengan kadar MDA maka dilakukan uji korelasi *Spearman's* yang dapat dilihat pada tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4 Uji Korelasi *Spearman's* Jumlah Tukak dengan Kadar MDA Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin

Pada uji korelasi ini didapatkan hasil bahwa terdapat hubungan positif antara jumlah tukak dengan kadar MDA gaster tikus wistar yang diinduksi indometasin. Artinya bahwa semakin tinggi kadar MDA maka semakin tinggi jumlah tukak. Sedangkan nilai *r* hitung 0.631 menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara jumlah tukak dengan kadar MDA gaster.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin betina yang berumur 8-10 minggu dengan berat badan 120-200 gram. Tikus yang digunakan juga dalam kondisi sehat. Pertimbangan menggunakan hewan coba ini karena selain mudah didapatkan, mudah dipelihara dan mudah dibiakkan, hewan ini juga tahan terhadap perlakuan, kondisi lingkungan laboratorium serta memiliki saluran pencernaan yang mirip dengan manusia²⁰.

Hewan coba yang digunakan berjenis kelamin betina dengan pertimbangan tidak ada perbedaan dalam hal pembentukan ulkus antara tikus jantan dan tikus betina. Selain itu karena pengguna NSAID kebanyakan adalah wanita maka diperlukan tikus betina untuk melaksanakan penelitian ini¹⁶. Pertimbangan penelitian menggunakan tikus berumur 8-10 minggu karena umur ini termasuk dalam kategori tikus dewasa sehingga organ yang diambil tidak terlalu kecil. Sedangkan berat badan tikus yang digunakan berkisar 120-200 gram dengan pertimbangan bahwa berat badan tersebut mencerminkan kesehatan hewan coba²¹.

Pada penelitian ini hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri atas lima ekor tikus dan tiap kandang terdiri dari dua ekor tikus. Pertimbangan menggunakan 2 ekor tikus pada setiap kandang dikarenakan tikus membutuhkan adaptasi dengan lingkungannya termasuk dengan tikus lainnya. Akan tetapi pertimbangan ini juga memiliki beberapa kekurangan seperti dapat mempengaruhi intake makanan tiap tikus dan dapat menyebabkan perkelahian antar tikus²⁰.

Penelitian ini menggunakan indometasin untuk menginduksi *Peptic Ulcer*. Indometasin merupakan salah satu obat golongan *Non Steroid Anti Inflammation Drugs* (NSAID) yang sering digunakan untuk mengurangi gejala radang. Obat ini bekerja dengan menghambat aktivitas COX-1 dan COX 2. Indometasin lebih selektif dalam menghambat aktivitas COX-1 dengan cara menghambat konversi asam arakhidonat menjadi prostaglandin. Prostaglandin merupakan salah satu faktor perlindungan mukosa gaster yang bekerja dengan meningkatkan produksi mukus dan bikarbonat

serta mencegah pengeluaran asam gaster. Apabila produksinya menurun maka perlindungan mukosa gaster menurun sehingga menyebabkan kerusakan mukosa gaster. Kerusakan inilah yang dapat menginduksi terbentuknya ulserasi²². Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek ekstrak air daun sirsak dalam mencegah *Peptic Ulcer* yang dapat diukur

		JUMLAH TUKAK	MDA
Spearman's	JUMLAH TUKAK	Correlation Coefficient	1.000 .631**
		Sig. (2-tailed)	. .001
	N		25 25

Keterangan:

** menunjukkan signifikansi ($p < 0.01$)

melalui kadar SOD dan MDA gaster sehingga penelitian ini membuat hewan coba model *Peptic Ulcer*. Berdasarkan hasil penelitian indometasin dosis 30 mg/kgBB dapat menyebabkan timbulnya manifestasi *Peptic Ulcer* yaitu adanya lesi yang menimbulkan perdarahan pada gaster tikus¹⁶. Hal ini juga dipastikan melalui uji pendahuluan yang dilakukan sebelum pelaksanaan penelitian dimana pemberian indometasin dosis 30mg/kgBB dapat menginduksi pembentukan ulkus pada gaster tikus.

Setelah dilakukan penelitian didapatkan hasil bahwa rerata nilai ulkus, tingkat keparahan ulkus serta indeks ulkus paling tinggi adalah pada KP. Sedangkan antar kelompok perlakuan didapatkan hasil bahwa semakin tinggi dosis ekstrak infusa daun sirsak maka semakin tinggi rerata nilai ulkus, tingkat keparahan ulkus serta indeks ulkusnya tetapi tidak lebih tinggi dibandingkan KP.

Ekstrak infusa daun sirsak diberikan secara peronde lambung selama 7 hari pada kelompok Perlakuan 1(P1) sebesar 100mg/kgBB, Perlakuan 2(P2) sebesar 200mg/kgBB, Perlakuan 3(P3) sebesar 400mg/kgBB. Pertimbangan menggunakan peronde gaster agar dosis yang diberikan pada hewan coba sama serta herbal dapat terserap secara langsung ke gaster tikus. Akan tetapi pemberian secara peronde dapat menyebabkan stres dan aspirasi pada tikus sehingga tikus beresiko mati. Sedangkan pertimbangan menggunakan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB karena dosis tersebut merupakan dosis yang digunakan untuk memberikan efek antioksidan dan antiinflamasi¹⁵. Pada penelitian ini, pembuatan herbal dilakukan dengan metode infundasi menggunakan pelarut air dengan tujuan untuk menarik lebih banyak senyawa aktif herbal yang larut dalam air. Setelah dilakukan infundasi, hasil infusa disaring dan dievaporasi menggunakan *rotatory evaporator* suhu 40 °C dengan kecepatan 40 rpm. Proses ini dilakukan hingga volume infusa menjadi sepertiga volume awal. Hasil evaporasi dioven dalam suhu 50 °C hingga menjadi bentuk pasta. Volume pasta akhir yang dihasilkan adalah 70 cc kemudian ditimbang berdasarkan kebutuhan dosis tikus. Setelah didapatkan

dosis masing-masing tikus, pasta dilarutkan dalam air dengan volume maksimal 2 cc untuk tiap dosis kemudian disondekan pada tikus selama 7 hari. Pemberian infusa bertujuan untuk meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA gaster tikus wistar.

Efek Pemberian Ekstrak Infusa Daun Sirsak terhadap Kadar SOD Gaster Tikus Wistar Betina yang Diinduksi Indometasin

Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, terdapat perbedaan yang signifikan kadar SOD gaster tikus antar kelompok penelitian ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa daun sirsak berpengaruh terhadap kadar SOD gaster.

Hasil Uji *Post Hoc* LSD menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok KN dengan KP. Artinya bahwa pemberian indometasin dapat menurunkan kadar SOD gaster. Hal ini disebabkan karena antioksidan endogen yaitu SOD yang digunakan secara berlebihan untuk menangkal radikal bebas. SOD berperan dengan mengubah *superoxide* ($O_2^{\cdot-}$) menjadi senyawa yang lebih stabil yaitu *Hydrogen Peroxide* (H_2O_2). Apabila SOD digunakan terus menerus maka kadar SOD gaster akan menurun⁷.

Selain itu terdapat perbedaan signifikan antara KP dengan P1 dan P2. Dosis P1 adalah dosis yang paling bagus dalam meningkatkan kadar SOD gaster. Hal ini sesuai dengan teori Rarangsari (2015), bahwa peningkatan kadar SOD disebabkan karena adanya aktivitas antioksidan yang berasal dari metabolit sekunder daun sirsak salah satunya flavonoid. Metabolit ini bekerja secara sinergis dengan enzim SOD untuk menangkal radikal bebas sehingga kadar SOD gaster tidak menurun seperti pada kontrol positif. Senyawa fenolik dalam daun sirsak bekerja dengan merangsang ekspresi gen enzim antioksidan seperti Mn-SOD dan Cu-Zn SOD, kemudian merangsang *Antioxidant Receptor Element* (ARE) serta merangsang DNA untuk memproduksi enzim antioksidan yaitu SOD²³. Mekanisme lain dari senyawa flavonoid sebagai antioksidan melalui aktifitas kelatting Fe^{2+} dan Cu^{2+} , scavenger radikal bebas, menghambat enzim *oxidase*, *lipoxidase*, *myeloperoxidase*, *NADPH oxidase*, *Xanthine oxidase*, *Fosfolipase*²⁴.

Dosis P3 menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap KP. Hal ini diduga karena dosis pada P3 lebih tinggi dari dosis P1 dan P2. Dalam dosis besar flavonoid akan menyebabkan terjadinya perubahan fungsi dari antioksidan menjadi prooksidan. Beberapa peneliti membuktikan bahwa senyawa polifenol dalam jumlah besar berubah menjadi prooksidan melalui mekanisme menginduksi pelepasan Cu^{2+} endogen, dan menginduksi kerusakan mitokondria^{24,25}.

Daun sirsak tidak hanya memiliki efek sebagai antioksidan tetapi juga digunakan sebagai antiinflamasi yang bekerja dengan menghambat aktivitas COX-2 sehingga pembentukan mediator inflamasi seperti prostaglandin, TNF dan IL-1 terhambat¹². Hal ini sesuai teori Sundalangi (2018), bahwa kandungan flavonoid pada daun sirsak dapat menekan pembentukan sitokin

proinflamasi seperti IL β dan TNFa yang diaktifkan makrofag karena adanya proses inflamasi²⁶. Menurut Bento dkk (2016) dan Hamid (2011), daun sirsak memiliki aktivitas antiulcer. Metabolit sekunder seperti flavon, flavonoid, flavonon, alkaloid dan tannin pada daun sirsak bekerja secara sinergis dalam mengaktifkan faktor perlindungan mukosa lambung dengan meningkatkan sekresi prostaglandin, mukus serta bikarbonat^{27,28}.

Dengan banyaknya efek tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek ekstrak infusa daun sirsak dalam mencegah terjadinya ulkus peptikum melalui peningkatan regenerasi epitel mukosa lambung.

Efek Pemberian Ekstrak Infusa Daun Sirsak terhadap Kadar MDA Gaster Tikus Wistar Betina yang Diinduksi Indometasin

Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, terdapat perbedaan signifikan kadar MDA gaster tikus antar kelompok penelitian ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa herbal daun sirsak berpengaruh terhadap kadar MDA gaster. Berdasarkan Uji *Post Hoc* LSD, terdapat perbedaan signifikan antara kelompok KN dengan KP. Artinya bahwa pemberian indometasin dapat meningkatkan kadar MDA gaster pada kelompok KP. Hal ini sesuai dengan penjelasan Dinu (2009), bahwa indometasin merupakan obat golongan NSAID yang bekerja dengan menghambat COX-1. Penghambatan aktivitas COX-1 menyebabkan konversi asam arakhidonat menjadi prostaglandin terganggu sehingga produksi prostaglandin akan menurun. Prostaglandin merupakan salah satu faktor pelindung dari mukosa gaster sehingga apabila jumlahnya menurun maka menyebabkan ketidakseimbangan faktor agresif dan faktor defensif gaster. Hal ini dapat menginduksi kerusakan mukosa gaster yang akan memicu pengeluaran mediator inflamasi disertai infiltrasi neutrofil. Infiltrasi neutrofil akan menghasilkan ROS salah satunya radikal *superoxide* ($O_2^{\cdot-}$). Radikal *superoxide* ($O_2^{\cdot-}$) akan bereaksi dengan membran lipid sehingga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Proses inilah yang menghasilkan alkanal seperti MDA sehingga kadar MDA gaster meningkat⁷.

Selain itu terdapat perbedaan signifikan antara KP dengan P1 dan P2. Dosis P1 adalah dosis yang paling bagus dalam menurunkan kadar MDA gaster. Penurunan kadar MDA gaster pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan adanya hambatan proses peroksidasi lipid. Hal ini menyebabkan penurunan pembentukan MDA dalam gaster. Adanya penurunan kadar MDA gaster diduga karena adanya kandungan bahan aktif yang terdapat dalam daun sirsak mempunyai aktivitas antioksidan²⁹. Hasil uji fitokimia daun sirsak yang menggunakan pelarut air menunjukkan bahwa terdapat senyawa aktif yaitu flavonoid, polifenol dan saponin yang berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa tersebut memiliki gugus OH yang digunakan untuk menyumbangkan elektronnya kepada radikal bebas³⁰. Hal ini sesuai dengan teori Wahdaningsih (2016), bahwa senyawa fenolik merupakan senyawa pemutus

rantai radikal bebas. Antioksidan fenolik menghambat oksidasi lipid dengan cara menyumbangkan gugus hidroksil kepada senyawa radikal yang menghasilkan radikal fenoksil. Senyawa ini termasuk senyawa yang relatif stabil sehingga tidak dapat membentuk reaksi radikal selanjutnya. Flavonoid juga bekerja menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen dari gugus hidroksil kepada radikal bebas sehingga pembentukan radikal bebas akan menurun³¹.

Pada P3 tidak didapatkan adanya penurunan kadar MDA. Hal ini diduga disebabkan karena dosis P3 merupakan dosis paling tinggi pada kelompok perlakuan sehingga konsentrasi antioksidan yang berasal dari senyawa flavonoid pada kelompok P3 juga tinggi. Konsentrasi antioksidan yang tinggi akan memicu pembentukan dari prooksidan. Hal ini sesuai dengan penjelasan Purba dan Martosupono (2009), bahwa antioksidan akan menjalankan fungsinya dengan baik apabila ada senyawa prooksidan. Ketika konsentrasi antioksidan dan prooksidan tidak seimbang dimana antioksidan pada gugus fenolik lebih tinggi dibandingkan prooksidan, maka antioksidan tersebut akan diubah menjadi senyawa prooksidan. Pembentukan prooksidan terjadi ketika antioksidan bereaksi dengan Fe dan Cu yang ada dalam tubuh dimana Fe³⁺ akan diubah menjadi Fe²⁺ atau Cu³⁺ diubah menjadi Cu²⁺. Ion Fe²⁺ inilah yang merupakan prooksidan yang aktif mengkatalisis H₂O₂ menjadi radikal hidroksil. Jika radikal hidroksil bereaksi dengan PUFA maka akan menghasilkan alkanal seperti MDA³². Oleh sebab itu kadar MDA pada gaster menjadi meningkat akibat konsentrasi antioksidan yang tinggi pada dosis P3.

Hubungan Antara Kadar SOD dan Kadar MDA Gaster Tikus Wistar Betina yang Diinduksi Indometasin

Berdasarkan Uji korelasi *Pearson*, didapatkan nilai p sebesar 0.000 dan nilai r sebesar -0.762 yang menunjukkan bahwa adanya korelasi negatif yang sangat kuat antara kadar SOD dengan kadar MDA gaster tikus wistar. Adanya korelasi negatif menandakan bahwa semakin meningkat kadar MDA maka semakin menurun kadar SOD gaster. Hal ini sesuai dengan penelitian Kristina dkk (2016), bahwa aktivitas MDA berlawanan dengan aktivitas SOD dimana semakin tinggi kadar SOD maka semakin rendah kadar MDA tikus. Selain itu terdapat adanya hubungan yang kuat antara kadar MDA dan SOD tikus³³.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak infusa daun sirsak maka semakin tinggi kadar MDA dan semakin rendah kadar SOD gaster tikus wistar. Peningkatan kadar MDA tersebut menunjukkan adanya reaksi peroksidasi lipid. Keadaan ini disebabkan karena ketidakseimbangan antara antioksidan endogen salah satunya SOD dengan jumlah prooksidasi dalam tubuh³³. Dosis ekstrak infusa daun sirsak dosis 100 mg/kgBB yang diberikan pada kelompok P1 merupakan dosis yang paling bagus dalam

meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA.

Hubungan Antara Jumlah Tukak dengan Kadar SOD dan MDA Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin

Berdasarkan hasil uji korelasi *Spearman's* didapatkan hasil adanya hubungan yang berlawanan antara jumlah tukak dengan kadar SOD gaster tikus wistar yang diinduksi indometasin yang berarti semakin menurun kadar SOD maka semakin tinggi jumlah tukak. Nilai r hitung 0.727 menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara jumlah tukak dengan kadar SOD gaster. Hal ini sesuai dengan teori Djamar'an (2008) bahwa penurunan kadar SOD menandakan berkurangnya antioksidan endogen. Jika SOD menurun maka antioksidan yang digunakan untuk menetralkan radikal bebas juga berkurang sehingga radikal bebas akan semakin meningkat. Peningkatan radikal bebas nantinya menyebabkan berbagai kerusakan sel dan kematian sel yang ditandai dengan adanya peningkatan jumlah tukak³⁴.

Sedangkan hubungan antara jumlah tukak dengan kadar MDA didapatkan hasil adanya hubungan positif antara keduanya. Artinya semakin tinggi kadar MDA maka semakin tinggi jumlah tukak. Nilai r hitung 0.631 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara jumlah tukak dengan kadar MDA gaster tikus yang diinduksi indometasin. Hal ini sesuai teori Djamar'an (2008) bahwa MDA merupakan hasil dari proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan hilangnya fluiditas membran, kegagalan transport ion serta menyebabkan kerusakan pada membran. Proses ini yang mengakibatkan sel kehilangan fungsinya dalam memproduksi mukus yang berfungsi untuk melindungi lambung dari paparan HCl. Jika produksi mukus menurun maka keadaan inilah yang dapat menginduksi pembentukan dari tukak lambung³⁴.

KESIMPULAN

1. Induksi indometasin dosis 30 mg/kgBB berpengaruh terhadap kadar SOD dan MDA gaster.
2. Pemberian ekstrak infusa daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 100 mg/kgBB pada P1 dan dosis 200 mg/kgBB pada P2 mampu meningkatkan kadar SOD gaster tikus yang diinduksi indometasin.
3. Pemberian ekstrak infusa daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 100 mg/kgBB pada P1 dan dosis 200 mg/kgBB pada P2 mampu

menurunkan kadar MDA gaster tikus yang diinduksi indometasin.

4. Terdapat hubungan negatif yang sangat kuat antara kadar SOD dan kadar MDA gaster.

SARAN

1. Melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek ekstrak infusa daun sirsak dalam mencegah terjadinya ulkus peptikum melalui peningkatan regenerasi epitel mukosa lambung.
2. Melakukan uji toksisitas ekstrak infusa daun sirsak dengan dosis lebih dari 400 mg/kgBB terhadap tikus normal untuk mengetahui keamanan penggunaan dan dosis maksimal terapi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa FK Unisma yang telah mendanai penelitian. Terimakasih kepada dosen pembimbing, staf laboratorium FK Unisma dan staf laboratorium farmakologi FK UB serta kelompok penelitian yang telah membantu menjalankan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Putri, D. P. W. Evaluasi Pengguna Obat Tukak Peptik pada Pasien Tukak Peptik (*Peptic Ulcer disease*) di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2008. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. Skripsi. 2010.
2. Setiati, S., dkk. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid II edisi VI. Jakarta: Interna Publishing. 2014.
3. Departemen Kesehatan RI. Profil kesehatan Indonesia 2007. Jakarta : Depkes RI Jakarta. 2008.
4. Roy, S. Clinical Study of Peptic Ulcer Disease. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 6(53). 2016.
5. Amrulloh F. M dan Utami Nurul. Hubungan Konsumsi OAINS terhadap Gastritis. *Majority*. Vol. 5, No. 5. 2016.
6. Enaganti, S. Peptic Ulcer Disease - The Disease and Non Drug Treatment. *Hospital Pharmacist*, Vol. 13. 2006.
7. Dinu Cristina., Diaconescu C., Avram, N. Gastric Mucosa Injury Associated With Oxidative Stress. Bucharest: *Lucrari Stiintifice Veterinara*. Vol. XLII. 2009.
8. Chori, F. A. M. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap kadar *Superoksida Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehyde* (MDA) Hepar Mencit Betina (*Mus Musculus*) yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz (α) Antrasen Secara In Vivo. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Skripsi. 2013.
9. Putri, Raden.N.A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Jakarta : Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Skripsi. 2012.
10. Sumantri, I., Hermawan, G.P., Laksono, H. Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Menggunakan Pelarut Etanol. *Momentum*, Vol. 10, No. 1 (34-37). 2014.
11. Puspitasari, dkk. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dan Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 4 No 1. 2016.
12. Soekaryo, I., Setyahadi, S., Simanjutak, P. Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) sebagai Penghambat Siklooksigenase-2. *THE 5th URECOL PROCEEDING*. 2017.
13. Londok, J. J. M. R., Mandey. J. S. Potensi Fitokimia dan aktivitas Antimikroba Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) sebagai Kandidat Bahan Pakan Ayam Pedagang. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, Vol. , No. 1. 2014.
14. Yuniarti, dkk. Potensi Ekstrak Air Daun Sirsak Sebagai Penurun Kolesterol dan Pengendali Bobot Badan. *Acta Veterinaria Indonesia*, Vol. 4, No. 2: 82-87. 2016.
15. Muhartono., Suharyadi A., Sukohar. A. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol daun Sirsak terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi DMBA. *Medical Journal of Lampung University*. ISSN 2337-3776. Vol. 3, No. 4. 2014.
16. Indraswari, I., Kalsum Umi., Sudjari. Pengaruh Pemberian Temulawak pada Lambung Tikus yang Mengalami Ulkus Peptikum Akibat Induksi Indometasin. Malang. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol. 20, No. 2. 2004.
17. Duangporn, dkk. Aloe vera Attenuated Gastric Injury on Indomethacin-Induced Gastropathy in Rats. *World J Gastroenterol*, Vol. 20, No. 48. 2014.
18. Hanafi N. A., Sutjiatmo. A. B., Vikasari S. N. Uji Efek Antitukak Lambung Ekstrak Air Herba Bayam Merah (*Amaranthus tricolor L.*) terhadap Tikus Wistar Betina. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 2, No. 1. 2014.
19. Abu Bakar . M. E., Taylor A., Ferns G. A. The Effect of Aluminium and Selenium Supplementation on Brain Injury and Liver Antioxidant statue in The Rat. *African Journal of Biotechnology*, 3(1) : 88-93. 2004.
20. Wijyanthi, K. K. D., Berata Ketut., Samsuri., Sadira. I. W. Histopatologi Usus Halus Tikus Putih Jantan yang Diberikan Deksmetason dan Vitamin E. *Buletin Veteriner Udayana*. Vol. 9, No. 01: 47-53. 2017.
21. Hairudin. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jinten Hitam Dalam Mencegah Stres Oksidatif Akibat Latihan Olahraga Anaerobik. *Jurnal Biomedis III*. Vol 1. 2015.
22. Mustaqim A., Asri Aswiyanti., Almurdi. Pengaruh pemberian Gel Lidah Buaya (Aloe vera) terhadap Gambaran Histopatologi Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin. Sumatera

- Barat. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Vol. 6, No. 3. 2017.
23. Rarangsari, Novi E. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap SOD dan Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alokstan. Malang: Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi. 2015.
 24. Yordil, E. G., Pérez, E. M., Matos, M. J., and Villares, E. U. Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. *Nutrition, Well-Being and Health*. www.intechopen.com. 2012.
 25. Eghbaliferiz, S., Mehrdad, I. Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytotherapy research*, Volume , issue 9. 2016.
 26. Sundalangi C. F., Loho L., Kairupan C. F. Gambaran Histopatologik Lambung Tikus Wistar yang Diberikan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Setelah Induksi Aspirin. *Jurnal e-Biomedik* (eBm). Vol. 4, No. 1. 2016.
 27. Bento E. B., et. al. Antiulcerogenic Activity of The Hydroalcoholic Extract of Leaves of *Annona muricata* Linnaeus in Mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2016.
 28. Hamid R. A., Foong C. P. Ahmad Z., Hussain M. K. Antinociceptive and Anti-Ulcerogenic Activities of The Ethanolic Extract of *Annona muricata* Leaf. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. ISSN 0102-695X. 2011.
 29. Rahman. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Diabetes Melitus yang Diinduksi Alokstan dengan Parameter Malondialdehid (MDA). *As-Syifaa*. Vol. 6, No. 01. 2014.
 30. Kurniasih, dkk. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn), Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. Bandung: UIN Sunan Gunung Djati. Vol. IX, No. 1. 2015.
 31. Wahdaningsih, S., Setyowati, E.P., Wahyuono, S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 156 – 160.
 32. Purba E. R., Martosupono M. 2009. Kirkumin sebagai Senyawa Antioksidan. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains. Vol. 4, No. 3.
 33. Kristina Heni., Sartono Nurmasari., Rusdi. Kadar Peroksida Lipid dan Aktivitas Superoksida Dismutase Serum Darah pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe-2. *BIOMA*. Vol. 12, No. 1. 2016.
 34. Djam'an Q. 2008. Pengaruh Air Perasan Daun *Cyclea barbata* Miers (Cincau Hijau) terhadap Konsentrasi HCl lambung dan Gambaran Histopatologik Lambung Tikus Wistar yang Diinduksi *Acetylsalicylic Acid*. Semarang: Universitas Diponegoro Semarang. Tesis.