

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR KOMBINASI DAUN JATI BELANDA, KEMUNING, MURBEI, DAN RIMPANG BANGLE TERHADAP KADAR SOD DAN MDA HEPARTIKUS DENGAN DIET TINGGI LEMAK

Kevin Krishnadi Hermawan, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email: kevinkrishna91@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Hiperlipidemia menyebabkan stres oksidatif, yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD hepar. Kombinasi air daunjati belanda(*Guazuma ulmifolia*), kemuning(*Murraya paniculata*), murbei(*Morus alba*), dan rimpang bangle(*Zingiber cassumunar*) (JKMB) dilaporkan memiliki potensisebagai antihiperlipidemia dan antioksidan. Penelitian inibertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak airkombinasi JKMB terhadap kadarSOD dan MDA tikus wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak modifikasi (DTLM).

Metode:Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik *in vivo* dengan desain *control group post test only*. Tikus wistar jantan sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (KN), kelompok kontrol positif (KP), dan tiga kelompok terapi ekstrak air kombinasi JKMB (D1, D2, D3). Kelompok KP, D1, D2 dan D3 menerima DTLM selama 12 minggu. Kelompok D1, D2, dan D3 juga menerima ekstrak air kombinasi JKMBsebanyak, : Kelompok D1 189mg/200gBB, D2 378mg/200gBB, D3 756mg/200gBB setiap hari selama 12 minggu. Kadar SODhepar diperiksa dengan menggunakan metode spektrofotometri pada λ 580 nm dan untuk MDA menggunakan metode TBARs. Data dianalisis menggunakan *One Way Anova*, dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD), hasil signifikan jika $P < 0.05$.

Hasil: Pemberian ekstrak air JKMB tidak mampu meningkatkan SOD dan menurunkan MDA secara signifikan. Hasil pemeriksaan kadar SOD hepar yaitu KN (15.30 ± 6.32); KP (18.22 ± 7.10); KD1 (26.76 ± 14.37);KD2 (21.92 ± 14.45); dan KD3 (27.28 ± 7.45). Kadar MDA pada KD1, KD2, dan KD3 lebih rendah dibandingkan dengan KN, tetapi tidak signifikan ($p > 0.05$). Hasil pemeriksaan kadar MDA hepar KN (996.00 ± 49.86); KP (1052.50 ± 78.99); KD1 (982.50 ± 57.05);KD2 (986.50 ± 69.69); dan KD3 (1026.50 ± 62.40).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak air JKMB tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadarSOD dan MDA hepar

Kata kunci: diet tinggi lemak, kadar SOD, kadar MDA, JKMB

THE EFFECT OF COMBINED WATER EXTRACT OF *Guazuma ulmifolia*, *Murraya paniculata*, *Morus alba* LEAVES, AND *Zingiber cassumunar* RHIZOME ON SOD AND MDA LIVER IN RATS WITH HIGH FAT DIET

Kevin Krishnadi Hermawan, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih
Medical Faculty, Malang Islamic University
Email: kevinkrishna91@gmail.com

ABSTRACT

Introduction:Hyperlipidemia cause oxidative stress. The latter was noted by increased MDA and decreased SOD level in the liver. The aqueous extract of combination of bay cedar (*Guazuma ulmifolia*), orange jessamine (*Murraya paniculata*), mulberry (*Morus alba*), and cassumunar ginger (*Zingiber cassumunar*) rhizomes(BOWM) is reported to have potential properties as an antihyperlipidemia and antioxidant. This study aims to find out the effect of BOWM on hepatic SOD and MDA levels in male rats treated with modified high-fat diet (MHFD).

Method: A laboratory experimental with control group post test only design. Twenty five male rats divided into 5 groups, negative control groups (KN), positive control groups (KP), and three groups of water extracts therapy (D1, D2, D3). The KP, D1, D2 and D3 groups receive MHFD for 12 weeks. The D1, D2, and D3 groups received the BOWM water extract, with a dose of 189 mg/200 gbw, 378 mg/200 gbw, and 756 mg/200 gbw per day for 12 weeks, respectively. Hepatic SOD levels were determined by using spectrophotometry and MDA levels determined by using TBARs. The data analyzed using One Way Anova followed by Least Significant Difference (LSD) test, the results are significant if $p < 0.05$.

Results: Aqueous extract of BOWM water extract unable to increase SOD and decrease MDA levels of the liver significantly. The liver SOD levels were KN (15.30 ± 6.32); KP (18.22 ± 7.10); KD1 (26.76 ± 14.37); KD2 (21.92 ± 14.45); and KD3 (27.28 ± 7.45). The liver MDA levels of the extract water of BOWM were insignificantly reduced ($p > 0.05$). The MDA levels in the liver, KN (996.00 ± 49.86); KP (1052.50 ± 78.99); KD1 (982.50 ± 57.05); KD2 (986.50 ± 69.69); and KD3 (1026.50 ± 62.40).

Conclusion: The extract water of BOWM insignificantly affect liver SOD and MDA levels.

Keywords: high-fat diet, SOD levels, MDA levels, *Guazuma Ulmifolia*, *Murraya Paniculata*, *Morus Alba*, and *Zingiber Cassumunar* Rhizome

PENDAHULUAN

Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) merupakan salah satu penyakit kronik yang umum terjadi akibat akumulasi lemak di hepar¹. Prevalensi NAFLD di dunia mencapai 20-30% dari populasi umum². Di Indonesia angka kejadiannya mencapai 30% dari jumlah penduduknya³. Tingginya prevalensi NAFLD ini sejalan dengan peningkatan prevalensi hiperlipidemia. Pada kasus hiperlipidemia, prevalensi menjadi NAFLD mencapai 60-85%⁴.

Gaya hidup masyarakat yang mulai berubah, seperti mengkonsumsi makanan yang tinggi lemak merupakan salah satu faktor risiko penyebab hiperlipidemia⁵. Hiperlipidemia menyebabkan peningkatan dan aktivasi terhadap enzim NADH/NADPH oksidase, sehingga terjadi peningkatan produksi *anion superoxide*, yang merupakan salah satu *Reactive Oxygen Species* (ROS)⁶. Meningkatnya radikal bebas akan menyebabkan tubuh mengalami stres oksidatif (*oxidativestress*)⁷. Terjadinya stres oksidatif dapat menstimulasi terbentuknya peroksidasi lipid sehingga dapat merusak membran sel hepar, yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA dan penurunan aktivitas enzim SOD hepar^{8,9}.

Pada saat ini, banyak sekali pilihan terapi untuk hiperlipidemia. *Gold standard* terapi hiperlipidemia adalah obat golongan statin. Akan tetapi, penggunaan statin jangka panjang menimbulkan efek samping berupa miopati, hilangnya fungsi kognisi, neuropati, dan gangguan gastrointestinal^{10,11}. Oleh karena itu, pada penelitian ini mencoba alternatif lain, yaitu menggunakan tanaman herbal. Menurut Riskesdas 2012, penggunaan herbal atau jamu sudah lama dilakukan oleh penduduk Indonesia sekitar 60% penduduk¹². Kelebihan dari penggunaan tanaman herbal yaitu lebih mudah didapatkan, harganya lebih murah, dan memiliki efektifitas yang tinggi¹³.

Beberapa tanaman herbal juga mampu berperan sebagai antioksidan. Menurut data dari Balai Materia Medika, terdapat empat kombinasi tanaman herbal, yang secara empiris digunakan oleh masyarakat karena potensinya sebagai antihiperlipidemia dan antioksidan. Empat tanaman herbal tersebut diantaranya adalah daun Jati Belanda, Kemuning, Murbei, dan Rimpang Bangle (JKMB)¹⁴.

Pada penelitian sebelumnya, telah dilaporkan bahwa kombinasi herbal jati belanda, kemuning, dan rimpang bangle mempunyai efek inhibisi enzim lipase pankreas sehingga absorpsi lemak dalam usus terhambat¹⁵. Pada penelitian yang dilakukan oleh Alviani (2007) dilaporkan bahwa ekstrak daun jati belanda mampu menurunkan konsentrasi lipid peroksida hepar pada tikus hiperlipidemia¹⁶. Hal ini dikarenakan pada jati belanda terdapat senyawa tanin, saponin, dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan¹⁷. Ekstrak daun kemuning

mengandung senyawa flavonoid, yang dapat bertindak sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas^{18,19}. Daun murbei memiliki senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dengan mendonorkan hidrogen²⁰. Ekstrak rimpang bangle memiliki aktivitas sebagai antioksidan kuat karena memiliki senyawa aktif berupa flavonoid vitamin C, vitamin E, karoten, dan senyawa fenolik^{21,22}.

Berdasarkan uraian di atas, dapat diketahui bahwa JKMB berpotensi sebagai antihiperlipidemia dan antioksidan yang dapat melindungi hepar. Namun penelitian tentang kombinasi herbal JKMB masih belum pernah ada, sehingga perlu dilakukan untuk mengetahui potensi dari kombinasi herbal JKMB dalam mempengaruhi kadar SOD dan MDA hepar pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik *in vivo* dengan design penelitian *control group post test only*. Hewan coba berupa tikus wistar jantan, yang diberidiet tinggi lemak dan ekstrak air kombinasi herbal JKMB selama 12 minggu. Penelitian ini dilakukan di *Animal house* FK UMM, FK UNISMA, laboratorium terpadu FK UNISMA, dan laboratorium faal FK UB, pada Januari - Juni 2018. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Commited*) Universitas Brawijaya dengan No. 864-KEP-UB tahun 2018.

Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus novergicus* strain wistar jantan, yang berusia 8 minggu dengan berat badan 150-200 gram²³. Jumlah hewan coba yang digunakan adalah 25 ekor. Tikus terbagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (n=5), kontrol positif (n=5), kelompok dosis 1 (n=5), kelompok dosis 2 (n=5), dan kelompok dosis 3 (n=5).

Pembuatan dan Pemberian Diet Tinggi Lemak Modifikasi (DTLM)

DTLM diberikan pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Komposisi DTLM pada penelitian ini adalah *Confeed PAR-S200* gram, terigu 100 gram, kolesterol 6 gram, asam kolat 0,4 gram, minyak babi 30 ml, dan 60 ml air, yang diberikan 25 gram/hari/tikus, selama 12 minggu. Komposisi DTLM ini merupakan modifikasi pakan dari komposisi penelitian Murwani (2006), yaitu *Confeed PAR-S 200* g, terigu 100 g, kolesterol 8 g, asam kolat 0,8 g, minyak babi 40 ml, dan air 51,2 ml yang diberikan selama 8 minggu²³.

Pembuatan dan Pemberian Ekstrak Air Kombinasi JKMB

Pembuatan kombinasi JKMB menggunakan metode infusa. Masing-masing herbal ditimbang sesuai dosis. Masukkan air sebanyak 200 mL dan panaskan diatas tangas air sampai suhu 90 °C. Kemudian masukkan herbal ke dalam tangas air tersebut selama 15 menit, aduk tiap 5 menit. Kemudian hasil infusa disaring dan disimpan pada suhu ruangan^{14,24}. Kombinasi JKMB didapatkan dari pencampuran daun jati belanda, kemuning, murbei dan rimpang bangle dengan 3 komposisi dosis yaitu KD1 72 : 27 : 27 : 63 mg/200gBB; KD2 144 : 54 : 54 : 126 mg/200gBB; dan KD3 288 : 108 : 108 : 252 mg/200gBB. Ekstrak air diberikan sebanyak 2 ml/tikus yang diberikan dengan tehnik sonde^{14,25}. Pemberian dilakukan setiap pukul 17.00 dan diberikan selama 12 minggu bersamaan dengan pemberian DTLM.

Pembedahan Hewan Coba

Tikus dianastesi secara inhalasi menggunakan kloroform 10%. Kloroform dituangkan pada kapas, kemudian diletakkan dalam wadah bersamaan dengan tikus yang akan dibedah, lalu ditunggu hingga lemas. Setelah itu, tikus diletakkan di atas papan pembedahan dan difiksasi. Pembedahan dilakukan mulai dari linea media abdomen menuju thoraks hingga seluruh bagian terbuka.

Preparasi Sampel Jaringan

Setelah tikus dibedah, hepar diambil, kemudian dibilas dengan larutan *NatriumChloride (NaCl)* 0,9%, selanjutnya potong jaringan hepar yang akan diperiksa dengan berat minimal 0,1 gram, lalu dimasukkan kedalam plastic clip dan diletakkan di dalam box yang berisi es, kemudian dikirim ke laboratorium faal FK Universitas Brawijaya.

Tabel 1. Karakteristik Sampel

Komponen	Kelompok				
	KN	KP	KD1	KD2	KD3
Jumlah Sampel	5	5	5	5	5
Jumlah/kandang	1	1	1	1	1
Lama adaptasi (hari)	7	7	7	7	7
Jenis Diet	Normal	Tinggi Lemak	Tinggi Lemak	Tinggi Lemak	Tinggi Lemak
Pemberian Sonde	Sonde Air	Sonde Air	Sonde Herbal	Sonde Herbal	Sonde Herbal
Dosis JKMB (mg/200gBB)	-	-	189	378	756
Rata-rata BB awal (g)	169.80 ± 13.90	170.40 ± 9.40	172.60 ± 23.82	172.40 ± 15.44	169.00 ± 17.85
Rata-rata BB akhir (g)	292.60 ± 14.15	290.60 ± 37.41	225.60 ± 46.93	267.80 ± 44.82	274.00 ± 21.24
Δ BB (g)	122.80 ± 17.33 ^a	120.20 ± 30.45 ^a	53.00 ± 35.46 ^b	95.40 ± 46.97 ^a	105.00 ± 10.00 ^a
Asupan Pakan/hari	24.81 ± 0.19 ^c	24.83 ± 0.18 ^c	23.23 ± 0.70 ^d	24.28 ± 0.56 ^c	24.66 ± 0.22 ^c

Keterangan : Data dalam mean ± standar deviasi (SD), notasi a berbeda signifikan terhadap b (p<0,05). Notasi c berbeda signifikan terhadap d. Kelompok Kontrol Negatif (KN); Kelompok Kontrol Positif (KP); Kelompok Perlakuan Dosis 1 (KD1); Kelompok Perlakuan Dosis 2 (KD2); Kelompok Perlakuan Dosis 3 (KD3).

Analisis Data

Analisa data dilakukan dengan menggunakan *software SPSS for Windows Version 22*. Data yang

Pemeriksaan Kadar SOD Hepar

Jaringan hepar sebanyak 100 mg dihomogenasi, kemudian dimasukkan kedalam *effendorf tube*. Setelah itu ditambahkan 1 ml phospat buffer saline, 100 ul xantine, 100 ul xantine oxidase, 100 ul NBT kemudian diaduk dengan vortex. Larutan yang telah tercampur dipanaskan dengan *waterbath* selama 30 menit pada suhu 30°C. Setelah dipanaskan kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Selanjutnya, supernatan diambil dan ditambahkan dengan PBS hingga 3500 ul. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometri pada λ maksimum 580 nm. Hasil absorbansi dikonversi berdasarkan kurva standar sehingga didapatkan hasil dengan satuan ng/mL²⁶.

Pemeriksaan Kadar MDA Hepar

Pemeriksaan kadar MDA dapat dilakukan menggunakan metode uji asam tiobarbiturat²⁷. Jaringan hepar ditimbang sebanyak 100 mg kemudian dihomogenasi. Setelah dihomogenasi kemudian dimasukkan kedalam *effendorf tube*, kemudian ditambahkan 1 ml aquades, 200 ul TCA 20%, 400 ul Na Thio 0,67% dan 250 ul HCL 1 N lalu diaduk dengan vortex. Setelah itu dipanaskan menggunakan *waterbath* dengan suhu 100°C selama 20 menit. Selanjutnya larutan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Kemudian presipitat diambil dan tambahkan aquades sampai dengan 3500 uL. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometri pada λ maksimum 532 nm. Hasil absorbansi dikonversi berdasarkan kurva standar sehingga didapatkan hasil dengan satuan ng/mL.

diperoleh dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu. Data dinyatakan normal dan homogen bila p>0,05. Jika data

terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji *One-way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hock LSD (Least Significance Different)*. Namun, jika data tidak terdistribusi normal, maka dilakukan uji non- parametrik yaitu *Kruskal Wallis*, kemudian dilanjutkan dengan uji *mann whitney*. Hasil dikatakan signifikan bermakna bila $p < 0,05$.

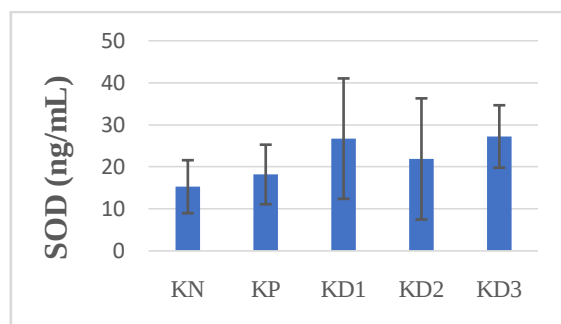
HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan dengan karakteristik populasi seperti pada tabel 1. Uji statistik *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada delta berat badan. KN, KP, KD2, dan KD3 berbeda signifikan terhadap KD1. Begitu juga pada asupan pakan, terdapat perbedaan yang signifikan antara KN, KP, KD2, dan KD3 dibandingkan dengan KD1.

Efek DTLM dan Ekstrak Air Kombinasi JKMB terhadap Kadar SOD

Hasil pemeriksaan dan analisa data pengaruh ekstrak air kombinasi JKMB terhadap kadar SOD hepar tikus wistar jantan yang diinduksi DTLM dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Rerata kadar SOD tikus

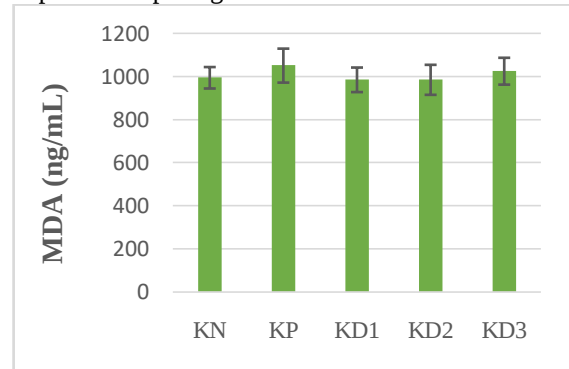
Keterangan: Rata-rata ± SD kadar SOD hepar KN (15.30 ± 6.32); KP (18.22 ± 7.10); KD1 (26.76 ± 14.37); KD2 (21.92 ± 14.45); dan KD3 (27.28 ± 7.45).

Data terdistribusi normal dan homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji statistik *One-way Anova*. Dari uji statistik tersebut, menunjukkan bahwa kadar SOD hepar tikus wistar jantan setelah diberikan DTLM pada KP cenderung meningkat dibandingkan dengan kelompok diet normal (KN). Pemberian ekstrak air kombinasi JKMB juga cenderung meningkatkan kadar SOD hepar pada KD1, KD2, dan KD3 dibandingkan dengan KN dan KP, tetapi peningkatannya tidak signifikan ($p > 0,05$). Namun kadar SOD hepar pada KD2 cenderung menurun dibandingkan dengan KD1 dan KD3, tetapi penurunannya juga tidak signifikan ($p > 0,05$).

Efek DTLM dan Ekstrak Air Kombinasi JKMB Terhadap Kadar MDA

Hasil pemeriksaan dan analisa data pengaruh ekstrak air kombinasi JKMB terhadap kadar MDA

hepar tikus wistar jantan yang diinduksi DTLM dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Rerata kadar MDA tikus

Keterangan: Rata-rata ± SD kadar MDA hepar KN (996.00 ± 49.86); KP (1052.50 ± 78.99); KD1 (982.50 ± 57.05); KD2 (986.50 ± 69.69); dan KD3 (1026.50 ± 62.40).

Data terdistribusi normal dan homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji statistik *One Way Anova*. Dari uji statistik tersebut, menunjukkan bahwa pemberian pakan DTLM pada KP, cenderung meningkatkan kadar MDA hepar tetapi tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok diet normal (KN). Sedangkan pemberian ekstrak air kombinasi JKMB pada KD1 dan KD2 cenderung menurunkan kadar MDA hepar dibandingkan dengan KN dan KP, tetapi penurunannya tidak signifikan. Namun, pada KD3 terjadi peningkatan secara tidak signifikan dibandingkan dengan KN, KD1, dan KD2. Tetapi lebih rendah dibandingkan dengan KP.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur wistar jantan. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba pada penelitian, karena mudah didapat dan mudah perawatannya, serta memiliki kesamaan metabolisme dengan manusia^{23,28}. Tikus juga memiliki kesamaan DNA dan ekspresi gen dimana 98% gen manusia memiliki gen yang sebanding dengan gen tikus²⁹. Pada penelitian ini dipilih tikus yang berjenis kelamin jantan. Pemilihan jenis kelamin tikus jantan bertujuan untuk memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh faktor hormonal, seperti estrogen³⁰. Hormon estrogen bisa mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol³¹. Selain itu, estrogen juga dapat menurunkan radikal bebas dengan meningkatkan regulasi antioksidan³².

Penelitian ini menggunakan tikus berusia 8 minggu. Menurut Sengupta *et al.* (2013) tikus usia 8-10 minggu merupakan tikus dewasa yang sudah *mature* dan siap kawin. Selain itu, penggunaan tikus usia 8 minggu bertujuan untuk menghindari resiko kematian karena usia tua³³. Hal ini didasarkan karena penelitian ini membutuhkan waktu adaptasi selama 1 minggu, kemudian

dilanjutkan perlakuan yang cukup lama, yaitu selama 12 minggu.

Komposisi pakan yang diberikan pada kelompok kontrol negatif (KN) adalah *confeed* PAR-S 10 gram, terigu 5 gram, dan 3 ml air, yang diberikan sebanyak 25 gram/tikus/hari. Kebutuhan makan tikus perhari yaitu 10 gram/100 gram berat badan tikus³³. Sedangkan menurut Curfset *al.* (2018) kebutuhan pakan tikus perhari yaitu 25-30 gram³⁴. Komposisi diet tinggi lemak pada penelitian ini merupakan modifikasi dari diet tinggi lemak komposisi pakan IV pada penelitian Murwani (2006). Diet tinggi lemak komposisi pakan 4 pada penelitian Murwani (2006) adalah sebagai berikut : *Confeed* PAR-S 200 g, terigu 100 g, kolesterol 8 g, asam kolat 0,8 g, minyak babi 40 ml, dan air 51,2 ml yang diberikan sebanyak 40 g/tikus/hari selama 8 minggu²³. Sedangkan komposisi Diet Tinggi Lemak Modifikasi (DTLM) pada penelitian ini adalah *Confeed* PAR-S200 gram, terigu 100 gram, kolesterol 6 gram, asam kolat 0,4 gram, minyak babi 30 ml, dan air 60 ml, yang diberikan sebanyak 25 gram/tikus/hari selama 12 minggu. Minyak babi memiliki kandungan asam lemak jenuh yang tinggi, terutama jenis palmitat dan stearat, sehingga akan memicu sintesis kolesterol, terutama LDL. Asam lemak jenuh juga menurunkan ekspresi reseptor LDL dalam hati sehingga terjadi akumulasi LDL di plasma dan peningkatan pembentukan LDL dari VLDL. Kandungan kolesterol pada minyak babi sebesar 85,17 mg/100g³⁵. Sedangkan penambahan asam kolat dapat menurunkan kadar HDL²³. Selain itu, menurut Heriansyah (2013) pemberian minyak babi, asam kolat, dan kolesterol menginduksi peningkatan kadar trigliserida pada serum darah tikus³⁶.

Asupan pakan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi berat badan tikus³⁷. Selain itu, DTLM juga dapat menyebabkan peningkatan berat badan karena asupan lemak yang berlebih akan disimpan pada jaringan adipose yang terletak di bawah kulit dan secara perlahan akan meningkatkan berat badan³⁸. Terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata delta berat badan, yaitu KN, KP, KD2, dan KD3 berbeda signifikan terhadap KD1. Hal ini disebabkan karena pada KD1 asupan pakannya paling kecil dibandingkan dengan kelompok lain. Asupan pakan pada tikus dihitung dari berat pakan yang diberikan dikurangi dengan sisa pakan yang ada. Berdasarkan tabel 5.1 diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada asupan pakan antara KN, KP, KD2, dan KD3 dibandingkan dengan KD1. Kecilnya asupan pakan pada KD1 diduga disebabkan karena pada KD1 ditemukan beberapa tikus yang terinfeksi jamur dan mengalami ulkus pada bagian luar abdomen. Tsalissavrina (2006) menyebutkan bahwa asupan pakan dipengaruhi oleh kondisi tikus³⁷.

Pada penelitian ini, didapatkan peningkatan berat badan pada setiap kelompok, namun tidak ada perbedaan yang signifikan antara berat badan akhir

pada KN dibandingkan dengan KP, yang menunjukkan bahwa DTLM belum mampu meningkatkan berat badan. Hal ini diduga karena komposisi DTLM yang terlalu kecil dan asupan pakan yang kurang. Pada penelitian yang dilakukan oleh Tsalissavrina (2006) menjelaskan bahwa pemberian pakan 26-30 g/hari/tikus mampu meningkatkan berat badan secara signifikan dibandingkan kelompok dengan diet normal³⁷.

Efek Pemberian DTLM Terhadap Kadar SOD Hepar

Pengaruh DTLM terhadap kadar SOD hepar tikus wistar jantan dievaluasi dari hasil analisa perbandingan antara kelompok kontrol negatif (KN), yang diberi diet normal dengan kelompok kontrol positif (KP), yang diberi DTLM. Pada penelitian ini kadar SOD hepar pada KP cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan KN, tetapi tidak signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Purwanto (2017), melaporkan bahwa pemberian diet tinggi lemak selama 10 minggu tidak mampu menurunkan kadar SOD secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol³⁹.

Hal ini diduga karena variasi jumlah SOD dalam tubuh. SOD merupakan antioksidan endogen tubuh dan berperan sebagai pertahanan tubuh pertama dalam mengatasi stres oksidatif, sehingga keberadaannya sangat penting di dalam tubuh untuk menangkal radikal bebas⁴⁰. Saat enzim SOD telah rusak atau terinaktivasi oleh ROS, maka aktivitas enzim SOD akan menurun⁴¹. Pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi lemak tidak mampu menurunkan kadar SOD. Hal ini diduga karena memang belum terjadi stres oksidatif, yang didukung dari hasil bahwa tidak terjadinya peningkatan kadar MDA secara signifikan pada KP dibandingkan dengan KN. Selain itu, bisa juga disebabkan karena enzim SOD masih dapat bekerja dengan baik dalam mengatasi radikal bebas. Hal ini disebabkan karena adanya adaptasi alami sel dalam tubuh terhadap kondisi stres oksidatif. Pada kondisi buruk, sel tubuh dapat membentuk pertahanan alami untuk mencegah kerusakan⁴². Hal ini didukung oleh pernyataan Chandrasena *et al.*, (2006) yang menyatakan bahwa di dalam tubuh terdapat respon peningkatan antioksidan pada kondisi stres oksidatif⁴³.

Efek Pemberian DTLM Terhadap Kadar MDA Hepar

Sama halnya dengan SOD, pengaruh DTLM terhadap kadar MDA hepar tikus wistar jantan dievaluasi dari hasil analisa perbandingan antara kelompok kontrol negatif (KN), yang diberi diet normal dengan kelompok kontrol positif (KP), yang diberi DTLM. Pada penelitian ini kadar MDA hepar pada KP cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan KN, tetapi tidak signifikan. Hal ini diduga disebabkan karena komposisi DTLM yang terlalu kecil, akibat modifikasi yang terlalu ekstrim dan

waktu induksi yang kurang lama. Dari data kelompok dilaporkan bahwa DTLM menyebabkan peningkatan kadar LDL secara signifikan ($p < 0,05$) dan menurunkan HDL tetapi tidak signifikan ($p > 0,05$) antara kelompok KN dibandingkan dengan KP⁴⁴. Namun tidak terjadi peningkatan kadarkolesterol dan trigliserida pada KP⁴⁵. Selain itu, DTLM juga belum mampu menyebabkan kerusakan pada sel hepar. Hal ini dibuktikan dari data kelompok, yaitu tidak terjadinya perbedaan yang signifikan kadar AST dan ALT pada KP dibandingkan dengan KN⁴⁶. Kerusakan sel hepatosit disebabkan karena ROS yang berlebih atau ketidakseimbangan antara senyawa oksidatif dan komponen antioksidan endogen sehingga aktivitas antioksidan di dalam tubuh menurun⁴⁷.

Diet tinggi lemak menyebabkan gangguan beta oksidasi akibat akumulasi trigliserida di hepar, sehingga menyebabkan peningkatan ROS, terutama *superoxide*⁴⁸. Selanjutnya, *superoxide* akan dirubah menjadi H_2O_2 oleh SOD yang kemudian bereaksi dengan Fe^{2+} (reaksi fenton) dan akan menghasilkan radikal hidroksil⁴⁹. Radikal hidroksil menyebabkan peroksidasi lipid dan menghasilkan produk utama yaitu MDA⁵. Oleh karena itu, tidak terjadinya peningkatan kadar MDA secara signifikan diduga karena DTLM belum mampu menyebabkan peningkatan ROS yang cukup tinggi.

Efek Pemberian Ekstrak Air Kombinasi JKMB terhadap Kadar SOD Hepar Tikus yang Diinduksi DTLM

Pada penelitian ini, uji ANOVA tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$) antara rerata kadar SOD pada KN, KP, KD1, KD2, dan KD3. Jika dilihat dari reratanya, kadar SOD hepar pada kelompok yang diberi ekstrak air JKMB, yaitu KD1, KD2, dan KD3 lebih tinggi dibandingkan dengan KN dan KP. Harapan dari penelitian ini, semakin besar dosis JKMB yang diberikan maka kadar SOD nya juga akan semakin tinggi. Akan tetapi, kadar SOD pada KD2 justru lebih rendah dibandingkan dengan KD1. Hal ini diduga karena tikus masih dalam kondisi sehat, karena DTLM belum mampu menyebabkan peningkatan ROS. Selain itu, diduga karena ekstrak air JKMB diberikan secara bersamaan dengan DTLM (preventif), yaitu selama 12 minggu. Sehingga, kadar SOD nya belum sampai menurun, namun sudah diberikan herbal yang berpotensi meningkatkan kadarnya. Akibatnya, efeknya tidak terlihat secara signifikan

Herbal JKMB memiliki kandungan senyawa flavonoid^{19,22,50,51}. Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan⁵². Oleh karena itu, diharapkan pemberian herbal JKMB mampu meningkatkan kadar SOD hepar. Pemberian JKMB pada penelitian ini ada kecenderungan meningkatkan kadar SOD, akan tetapi peningkatannya tidak signifikan. Hal ini diduga karena dosis kombinasi yang diberikan kurang tepat. Dosis pada penelitian ini merupakan resep empiris di masyarakat dengan

komposisi 1 sendok makan serbuk daun jati belanda, 1 sendok teh serbuk daun kemuning, 1 sendok teh serbuk daun murbei, dan 3 iris rimpang bangle¹⁴. Selanjutnya, dosis empirik ini dikonversikan melalui website, lalu dikonversikan ke tikus (200grBB) dengan faktor konversi 0.018, sehingga diperoleh dosis kombinasi JKMB KD2 dengan komposisi (144 : 54 : 54 : 126 mg/200gBB). Setelah dilakukan penimbangan herbal secara langsung, ternyata komposisi hasil konversi tersebut tidak sesuai dengan penimbangan secara langsung. Hasil penimbangan secara langsung, diperoleh dosis JKMB pada KD2 (118,8 : 43,56 : 43,2 : 163,8 mg/200gBB).

Selain itu, pembuatan ekstrak JKMB menggunakan metode infusa, dilakukan 2-3 hari sekali. Ekstrak air JKMB disimpan di dalam lemari es selama 24-36 jam. Sediaan infusa hanya dapat menyari zat-zat yang bersifat polar, penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang⁵³. Oleh karena itu infusa harus dibuat segar setiap hari, tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam⁵⁴. Sehingga, tidak terjadinya peningkatan kadar SOD secara signifikan diduga juga disebabkan karena ekstrak air JKMB yang diberikan tidak selalu dalam kondisi segar, sehingga menyebabkan zat aktifnya tidak mampu bekerja secara maksimal.

Efek Pemberian Ekstrak Air Kombinasi JKMB terhadap Kadar MDA Hepar Tikus yang Diinduksi DTLM

Seperti yang telah disebutkan di atas, JKMB memiliki zat aktif berupa flavonoid, yang berperan sebagai antioksidan. Kandungan flavonoid pada JKMB dapat menangkal radikal bebas. Flavonoid sangat efektif sebagai antioksidan karena mampu menangkap radikal bebas dengan mendonasikan atom hidrogen dari gugus -OH kepada radikal bebas serta kemampuannya untuk menstabilkan dan memindahkan elektron yang tidak berpasangan⁵⁵. Mekanisme transfer elektron hidrogen dapat mencegah tahap inisiasi peroksidasi lipid yaitu dengan cara bereaksi dengan lipid radikal atau secara langsung menghambat peroksidasi lipid sehingga mencegah pembentukan MDA secara berkelanjutan⁵⁶.

Pada penelitian ini, uji ANOVA tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$) antara rerata kadar MDA pada KN, KP, KD1, KD2, dan KD3. Namun, jika dilihat dari reratanya, kadar MDA hepar pada kelompok yang diberi ekstrak air JKMB, yaitu KD1, KD2, dan KD3 lebih rendah dibandingkan dengan KP tetapi tidak signifikan. Semakin besar dosis JKMB yang diberikan, justru semakin meningkatkan kadar MDA hepar.

Hal ini diduga disebabkan karena konsentrasi antioksidan yang terlalu tinggi. Antioksidan dari kombinasi empat tanaman herbal memungkinkan dapat menghasilkan potensi aktivitas total antioksidan yang sangat tinggi⁵⁷. Akan tetapi, perlu

juga menjadi pertimbangan bahwa pada konsentrasi yang sangat tinggi, respon antioksidan belum tentu menjadi lebih baik. Antioksidan pada konsentrasi yang terlalu tinggi, dapat berubah menjadi prooksidan⁵⁰. Prooksidan merupakan senyawa yang dapat mendorong oksidasi berlebih pada membran sel yang melibatkan senyawa radikal bebas dan berujung terjadinya reaksi rantai. Oleh karena itu, untuk melihat sifat antioksidan atau prooksidan suatu senyawa perlu penelitian di tingkat sel⁵⁸.

Selain itu, penelitian ini menggunakan kombinasi 4 herbal, sehingga memungkinkan adanya interaksi antar zat aktif. Semakin banyak jumlah herbal yang dikombinasikan, maka interaksi antar zat aktif semakin bervariasi⁵⁹. Interaksi tersebut dapat berupa sinergis (saling menguatkan) atau justru antagonis, saling melemahkan satu sama lain sehingga kerja senyawa pada setiap herbal tidak optimal terhadap sel targetnya⁶⁰. Iswantini (2011) melaporkan bahwa kombinasi ekstrak air Jati Belanda, Kemuning, dan Rimpang Bangle (JKB) dapat menghambat aktivitas lipase pankreas, namun efek dari ekstrak kombinasi lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya¹⁵. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air kombinasi JKB tidak bekerja secara sinergis. Akibatnya, semakin tinggi dosis JKMB yang diberikan, maka kadar MDA nya juga semakin meningkat.

KESIMPULAN

1. Pemberian ekstrak air kombinasi JKMB meningkatkan kadar SOD hepar tetapi tidak signifikan pada Tikus Wistar jantan yang diinduksi diet tinggi lemak.
2. Pemberian ekstrak air kombinasi JKMB tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar MDA hepar pada Tikus Wistar jantan yang diinduksi diet tinggi lemak.

SARAN

1. Perlunya memperhatikan komposisi diet tinggi lemak yang sesuai, agar menghasilkan kondisi yang dapat meningkatkan ROS.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas pada kombinasi herbal sebelum melakukan penelitian, untuk mengetahui dosis yang aman digunakan dan interaksi yang terjadi antar zat aktif.
3. Infusa harus dibuat segar setiap hari, tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah mendanai penelitian ini, dosen pembimbing, staf laboratorium, dan teman – teman kelompok yang telah membantu jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, *et al.* The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American

- Association for the Study of Liver Disease, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*: 55(6). 2012.
2. Masarone, M., Federico, A., Abenavoli, L., Loguercio, C., dan Persico, M. Non Alcoholic Fatty Liver: Epidemiology and Natural History. *Reviews on Recent Clinical Trials*, Vol. 9, No. 3, p. 126. 2014.
3. Prasetya, I. B., Hasan, I., Wisnu, W., Rumende, C. M. Prevalence and Profile of Fibrosis in Diabetic Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease and the Associated Factors. *Acta Med Indones - Indones J Intern Med*, Vol 49, Number 2, page 91-98. 2017.
4. Sherif, Z. A., Saeed, A., Ghavimi, S., Nouraie, S. M., Laiyemo, A. O., Brim, H., and Ashktorab, H. Global Epidemiology of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Perspectives on US Minority Populations. *HHS Public Access*, 61(5): 1214–1215. 2017.
5. Setiawan, D. I., Tjahyono, K., dan Afifah, D. N. The Effect of Soybean Sprout (Glycine Max) to Levels of Malondialdehyde (MDA) and Superoxide Dismutase (SOD) of Male Sprague Dawley Rats Hypercholesterolemic. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, Vol. 13, No. 1, P. 24-25. 2016
6. Farhana, N. Pengaruh Pemberian Kutu Jepang (*Tenebrio Molitor*) Terhadap Kadar Superoxide Dismutase (Sod) Darah Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur *Sprague Dawley* yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Semarang. 2017
7. Novidiyanto, Farmawati, A., Lestari, I. A. The effect of mung bean sprouts (*Phaseolus radiates* (L)) to level of plasma malondealdehyde (MDA) and liver tissue of Sprague Dawley rats with high fat diet. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, Vol. 13, No. 2, Oktober 2016: 82-89
8. Daulay, D. G., Supriatmo, dan Atan, B.S. *Hepatitis Akibat Penyakit Sistemik*, Sari Pediatri. 8(4):294-298. 2007.
9. Widyaningsih, W., Sativa, R., Primardiana, I. 2015. Antioxidant Effect Of Ethanolic Extract Of Green Algae (*Ulva Lactuca* L.) Malondialdehyde (MDA) Level And Activity Of Superoxide Dismutase (SOD) In Liver Of Rats Induced By Ccl4. *Media Farmasi*, Vol 12, No 2 September 2015:163-175.
10. Tjandrawinata, R. R. Terapi Masa Depan Melalui Penghambatan atau *Downregulation* Ekspresi *Cholesteryl Ester Transfer Protein* (CETP) dalam Menurunkan Risiko Penyakit Kardiovaskular. *Jurnal Medicinus* Vol. 26, No.1. Maret 2013.
11. Nuraliyah, N. M dan Sinuraya, R. K. Efek Neuroprotektif Dan Gangguan Kognitif Statin: Sebuah Literature Review. *Farmaka Suplemen*, Volume 15 Nomor 2, Hal. 111-118. 2016.
12. Riskesdas. Profil Kesehatan Indonesia 2014. KEMENKES: Jakarta. 2014

13. World Health Organization. WHO Traditional Medicine Strategy. 2013
14. Mallaleng, H.R., Purwaningtyas, U., Hermawati, R., Solichah, N., & Syah, F.Z.N. Tanaman Obat untuk Penyakit Sindrom Metabolisme (Metabolic Syndrome Disease). Malang: Penerbit Universitas Negeri Malang. 2015.
15. Iswantini, D., Silitonga, R. F., Martatilofa, E., dan Darusman, L. K. Zingiber cassumunar, Guazuma ulmifolia, and Murraya paniculata Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. Hayati Journal of Biosciences, Vol. 18, No. 1, p. 6-7. 2011.
16. Alviani. Khasiat ramuan Ekstrak Daun Jati Belanda terhadap Peroksida Lipid Hati Tikus Hiperlipidemia. Skripsi. Program Studi Biokimia FKIP IPB. Bogor. 2007.
17. Permana, R. J., Azaria, C., dan Rosnaeni. The Effect of Jati Belanda Leaves (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) Ethanol Extract on Microscopic Features of Atherosclerotic Animal Model's Aorta. *Journal of Medicine and Health*, Vol. 1 No. 4. P. 308-309. Agustus 2016.
18. Zhang, Q. dan Lun, G. L. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Dyslipidemia, Risk for Cardiovascular Complication, and Treatment Strategy. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 3(1): 78-84. 2015.
19. Sayar, K., Paydar, M., dan Pingguan-Murphy, B. Pharmacological Properties and Chemical Constituents of *Murraya paniculata* (L.) Jack. *Medicinal & Aromatic Plants*, Volume 3, No. 4, p. 3. 2014.
20. Jurian, V. Y., Suwasono, S., dan Fauzi, M. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Murbei (*Morus Alba*) Terhadap *Escherichia Coli*. Prosiding Seminar Nasional Apta, Oktober 2016. p. 256-260.
21. Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* roxb). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2013.
22. Rissanti, I., Fachriyah, E., dan Kusri, D. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Aseton Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* 17 (3) (2014) : 75 – 79
23. Murwani, S., Mulyohadi, A., & Ketut, M. Diet Aterogenik pada Tikus Putih (*Rattus novergicus* Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal kedokteran Brawijaya*, Vol XXII, No 1, April 2006.
24. Somadaya, N. A., Bodhi, W., Nansy, C. Uji Khasiat Infusa daun kate mas (*Euphorbia heterophylla* desf) sebagai laksansia pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah farmasi*. 2015.
25. Andriani, Y. Toksisitas Fraksi Aktif Steroid Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma Ulmifolia* Lamk.) Terhadap Aktivitas Serum Glutamat Oksalat Transaminase (SGOT) Dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT) Pada Tikus Putih. *Jurnal Gradien* Vol. 4 No. 2, Juli 2008 : 365-371.
26. Kusumastuty, I., Nugroho, F. A., dan Harti, L. B. Hubungan Kadar Sod dan Jumlah Sel Radang Akut Akibat Pemberian Tepung Pspl pada Tikus Yang Dipapar Asap Rokok. *Gizi Indon* 2014, 37(1):15.
27. Sutari, V. T., Sugito, Aliza, D., dan Asmarida. Malondialdehyde (MDA) Level of Liver Tissue of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Supplemented with Willow (*Salix tetrasperma* Roxb) Leaves Powder and Heat Stresse. *Jurnal Medika Veterinaria* Vol. 7, No. 1, p. 37. Februari 2013.
28. Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I. M., Dan Prastyo, E. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Tersertifikas Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. Fakultas Peternakan Dan Pertanian, Universitas Diponegoro. 2013.
29. Siregar, K. S. Euthanasia And Necropsy Techniques In Rat (*Rattus Norvegicus*) In *National Laboratory Animal Center* (Nlac), Mahidol University, Thailand. 2017.
30. Andini, A. N. dan Ardiaria, M. Pengaruh Pemberian Kombinasi Minyak Rami dengan Minyak Wijen terhadap Kadar Trigliserida pada Tikus Sprague Dawley Dislipidemia. *Journal of Nutrition College*, Volume 5, Nomor 4, Tahun 2016 (Jilid 5), p. 557.
31. Tambunan, S., Asni, E., Malik, Z., dan Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. *Jom FK* Vol.2 No.1 Februari 2014, p. 2-4
32. Ventura-Clapier, R., Moulin, M., Piquereau, J., Lemaire, C., Mericskay, M., Veksler, V., dan Garnier, A. Mitochondria: a central target for sex differences in pathologies. *Clinical Science* (2017) 131: 806.
33. Sengupta, P. The Laboratory Rat: Relating Its Age with Human's. *International Journal of Preventive Medicine*, Vol 4, No 6, June 2013
34. Curfs, H. A. J., Chwalibog, A., Savenije, B. S., dan Ritskes-Hoitinga, M. Nutrient requirements, experimental design, and feeding schedules in animal experimentation. Chapter 11, p. 308. 2010.
35. Pontang, G. S., Johan, A., dan Subagio, H. W. 2014. Efek Pemberian Chlorophyllin terhadap Kadar Nitric Oxide dan Malondialdehida Tikus Hiperkolesterolemia. *Jurnal Gizi Indonesia*, Vol. 3, No. 1, Desember 2014: 29.
36. Heriansyah, T. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus Novergicus* Strain Wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syah Kuala* Vol.2, No.1. 2013.

37. Tsalissavrina, I., Wahono, D., Handayani, D. Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Trigliserida dan HDL Darah Pada Rattus Novergicus Galur Wistar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, vol. 22, no. 2, 2006, pp. 80–8.
38. Bintari, S. H., dan Nugraheni, K. Penurunan Kadar Gula Darah Akibat Pemberian Extra Virgin Olive Oil (Studi pada Tikus Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak). *Jurnal MIPA* 35(2). 2012.
39. Purwanto, S. Y. Pengaruh Berbagai Interval Pembatasan Waktu Makan terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan *Superoxide Dismutase* (SOD) Jaringan Hepar Tikus Wistar Jantan dengan Diet Atherogenik. Skripsi. Program Studi Kedokteran FK UNISMA. Malang. 2017.
40. Harun, I., Susanto, H., dan Rosidi, A. 2017. Pemberian Tempe Menurunkan Kadar *Malondialdehyde* (Mda) dan Meningkatkan Aktivitas Enzim *Superoxide Dismutase* (Sod) Pada Tikus dengan Aktivitas Fisik Tinggi. *Jurnal Gizi Pangan*, November 2017, 12(3): 212-214.
41. Dianti, R. R., Rusdi, dan Evriyani, D. Kadar *Malondialdehyd* dan Aktivitas Enzim *Superoksida Dismutase* pada Hipertensi dan Normotensi. *BIOMA* 12 (1). 2016.
42. Kristina, H., Sartono, N., dan Rusdi. Kadar *Peroksida Lipid* Dan Aktivitas *Superoksida Dismutase* Serum Darah Pada Penderita *Diabetes Melitus Tipe 2*. *BIOMA* 12 (1). 2016.
43. Chandrasena, L. G., Chackrewarthy, S., Perera, T. M., dan Silva, D. *Erythrocyte Antioxidant Enzyme in Patient with Cataract*. *Annal of Clinical and Laboratory Science*, 36 (2): 203-205. 2006.
44. Prasetyo, I. R. N. A., Herbani, M., dan Wahyuningsih D. Efek Infusa Kombinasi Jati Belanda, Kemuning, Murbei, dan Bangle Terhadap Ldl dan Hdl Serum Tikus Hiperlipidemia. Fakultas Kedokteran UNISMA. Malang. 2019.
45. Amalia, A. R., Herbani, M., dan Wahyuningsih D. Efek Ekstrak Air Kombinasi Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*), Kemuning (*Murraya paniculata*), Murbei (*Morus alba*), dan Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*) Terhadap Kadar Trigliseridan dan Kolesterol Serum Tikus dengan Diet Tinggi Lemak. Fakultas Kedokteran UNISMA. Malang. 2019.
46. Kusuma, A. D. A., Herbani, M., dan Wahyuningsih D. Efek Ekstrak Air Kombinasi Daun Jati Belanda, Kemuning, Murbei, dan Rimpang Bangle Terhadap Kadar AST dan ALT Serum Tikus dengan Diet Tinggi Lemak. Fakultas Kedokteran UNISMA. Malang. 2019.
47. Amiralevi, S. H., Trianto, H. F., Novianry, V., Zakiah, M. Efek Paparan Formaldehyd Oral Akut pada Histologi Hati Tikus Wistar Jantan. *Jurnal Cerebellum*. Volume 3. Nomor 3. Agustus 2017.
48. Dowman, J. K., Tomlinson, J. W., dan Newsome, P. N. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Q J Med* 2010; 103:72–75.
49. Pramudya, R., Purnomo, Y., dan Fadli Z. Efek Infusa Daun Pegagan (*Cantella aslantica*) dan Doa Terhadap Kadar SOD dan MDA Serum Tikus Sprague Dawley (*Rattus norvegicus*) Model Alkoholik. Program Studi Pendidikan Dokter FK UNISMA. 2016.
50. Hidayat, M., Soeng, S., Prahastuti, S., Patricia, T.H. dan Yonathan, K.A. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Antitrigliserida Ekstrak Tunggal Kedelai, Daun Jati Belanda Serta Kombinasinya. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik* Vol. 16, No. 2, Juli 2014: 89 – 94.
51. Umar, A. H., Syahrini, R., Burhan, A., Maryam, F., Amin, A., Marwati *et al.* 2016. Determinasi Dan Analisis *Finger Print* Tanaman Murbei (*Morus Alba* Lour) Sebagai Bahan Baku Obat Tradisional Dengan Metode Spektroskopi Ft-Ir dan Kemometrik. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*, Vol. 5 No. 1 Februari 2016. p. 79-80.
52. Taufika, R., Aziz, S. A., dan Melati, M. Flavonoid production of orange jessamine leaf (*Murraya paniculata* L. Jack) with various organic fertilizer and harvest intervals. *Bul. Litro*, Volume 27, Nomor 1. 2016. p. 28-29.
53. Kristianingsih, I. dan Wiyono, A. S. Utilising of Avocado Leaves Infuse (*Persea Americana* Mill.) and Pandan Wangi Leaves Extract (*Pandanus Amarryllifolius* Roxb) as a Laxative Calcium In Kidney Stones In Vitro. *Jurnal Wiyata*, Vol. 2, No. 1. 2015.
54. Aspan. N. Acuan Sediaan Herbal. BPOM RI. Volume 5, edisi I. 2010.
55. Dewi, N. W. O. A. C., Puspawati, N. M., Swantara, I. M. D., Asih, A. I. R. A., dan Rita, W. S. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) dalam Menghambat Reaksi *Peroksidasi Lemak* pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. Volume 2, Nomer 1, Mei 2014: 7-16
56. Ulfah, E. F., Komariah, C., dan Elfiah, U. Effects of Murbei Leaf Extract (*Morus alba* L.) on *Malondialdehyde* (MDA) Eye Lens in Rats (*Rattus novergicus*) Cataract Model. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, Vol. 4, No.3. 2018: 156-157.
57. Lingga, L. The Healing Power of Anti-oxidant. Jakarta: Elex Media Komputindo. 2012.
58. Yomes, A. T. Sifat Prooksidan Dan Antioksidan Vitamin C Dan Teh Hijau Pada Sel Khamir *Candida* Sp. Berdasarkan *Peroksidasi Lipid*. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. 2006.

59. Parwata I. M. O. K. Obat Tradisional. Jurusan Kimia. Universitas Udayana. 2016.
60. Aswarita, R. 2013. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (Aloe Vera L.) Dan Daun Jambu Biji (Psidium Guajava L.) Terhadap Daya Hambat Escherichia Coli Secara In Vitro. *Jurnal EduBio Tropika*, Volume 1, Nomor 2, Edisi Khusus, Desember 2013, hlm. 115-117.