

# TESIS

## **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK BUAH MENGGKUDU ( *Morinda citrifolia* Linn ) PADA TIKUS DEWASA YANG DIINDUKSI ALLOXAN**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

TKD 04/2003  
Padoli  
0



**PADOLI**

**NIM 090014152M**

**PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2003**

MICE AS LABORATORY ANIMAL  
ADLN-Perpustakaan Universitas Airlangga  
MORINDA

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK BUAH MENGGUDU  
( *Morinda citrifolia* Linn ) PADA TIKUS DEWASA YANG DIINDUKSI  
ALLOXAN**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

**TESIS**

**Untuk memperoleh Gelar Magister Kesehatan  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Minat Ilmu Biologi Kedokteran  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**



**OLEH**

**PADOLI**

**NIM 090014152M**

**PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2003**



**Lembar Pengesahan**

TESIS INI TELAH DISETUJI  
TANGGAL 14 JULI 2003

Oleh

Pembimbing Ketua



Prof. Bambang Rahino Setokusuma, dr.  
NIP. 130 162 062



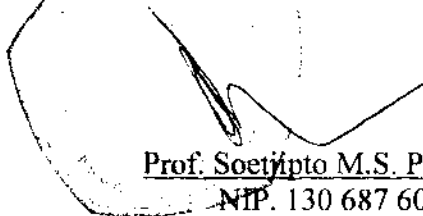
Pembimbing



Dr. I Ketut Suidiana, Drs, MSi  
NIP. 130 877 636

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof. Soetjipto M.S. Ph.D, dr.  
NIP. 130 687 606

Telah diuji pada  
Tanggal 29 Juli 2003  
PANITIA PENGUJI TESIS

Panitia Penguji,

Ketua : Prof. I.G.B. Amitaba, drh.

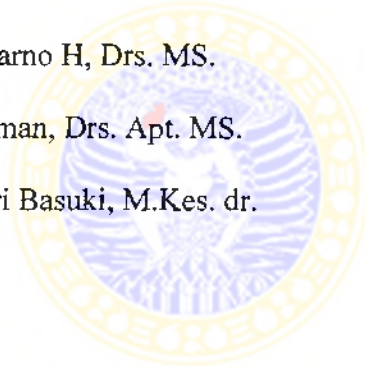
Anggota : 1. Prof. Bambang Rahino Setokusuma, dr

2. Dr. I Ketut Suidiana, Drs. MSi

3. H. Soeharno H, Drs. MS.

4. Sukardiman, Drs. Apt. MS.

5. DR. Hari Basuki, M.Kes. dr.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama – tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan hidayahNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Kiranya tidaklah berlebihan bila saya sampaikan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi – tingginya kepada Prof. Bambang Rahino Setokusuma, dr, pembimbing ketua dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan bimbingan dan dorongan serta saran untuk kesempurnaan tesis ini

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada DR. Ketut Sudiana, Drs, MSi, selaku pembimbing ketua dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan bimbingan dan dorongan serta saran untuk kesempurnaan tesis ini

Saya Ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Departemen Kesehatan RI. Cq Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan melalui Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur yang telah memberikan bantuan financial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof Dr. Med. Puruhito, dr. SpBKV (K) atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti Program Magister
2. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh Prof. DR. H Muhammad AMin, dr atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Airlangga
3. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang dijabat oleh Soetjipto, dr, MS, PhD. atas kesempatan dan bimbingan sebagai mahasiswa IKD Program Pascasarjana Universitas Airlangga
4. Ketua Minat Biologi Kedokteran yang dijabat oleh H. Soeharno, H, Drs. MS atas kesempatan dan bimbingan sebagai mahasiswa IKD Program Pascasarjana Universitas Airlangga
5. Direktur Akademi Keperawatan Soetomo Surabaya yang hingga pertengahan dijabat oleh H.M.Jasir, SKM, yang kemudian menjadi Politeknik kesehatan Surabaya yang dijabat oleh Muchson, MSc atas kesempatan yang diberikan Kepada saya untuk mengikuti pendidikan program Magister
6. Para dosen Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar terutama minat Biologi Kedokteran dan temanku Drs Waris atas ilmu pengetahuan yang diberikan kepada saya
7. Istriku Erna Nuroini, anakku Luthfi, Dian dan Fatimatuzzahro yang telah memberikan dukungan dan kesabarannya sehingga pendidikan saya dapat terselesaikan
8. Semua pihak yang tak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memberikan dukungan, saran serta perhatian dalam menyelesaikan penelitian ini.

## SUMARY

### The Activity Of *Morinda Citrifolia* Linn Extract Administration On The Superoxide Dismutase And Malonaldehyde Enzym In Male White Rats With Alloxan Induced

Recently, the word of medicine attention to antioxidant increasly, because negatif impact free radicals and oxidant can cause breaks of the membran cell, cell mutation. It is lead to tissue degeneration that is thought as result of multiple disease from oxidative stress. In diabetes mellitus, oxidative stress has been found tobe mainly due to an increased production of oxygen free radicals and a sharp reduction of antioxidant defenses.

Cost of chemical drugs more increasing and have been supported by back to nature and consume less chemical promotion, have been supported people to choice plant drugs for resolve their health problem.

*Morinda citrifolia* linn is a plant drugs consist of antioxidant. Administering it is hope free radicals activities is decrease so can not the pancreatic damage with diabetic complications.

The method of this study is laboratories experimental with extended randomized posttest only control design group of *morinda citrifolia* linn in alloxan-induced diabetic rat or oxidative stress.

The analyzed of *morinda citrifoli* has been used analysis of varians superoxide dismutase increased and malonaldehyde decreased to determined for antioxidant effect of *morinda citrifolia* linn. Examine of *morinda citrifolia* linn fruit extract include dose and time administering. The doses determined of 1500 mg/kgBB and 2000 mg/KgBB, that is used to investigated which dose have been antioxidant more effective, to diminished free radicals of lever fractions. Therefore, time of the treatment is different for one week and two weeks.

The based on analized of superoxide dismutase enzym changes and malonaldehyde been shown that administering of *morinda citrifolia* linn extract have been effect antioxidant more maximally at 2000 mg/KgBB dose for one week rather than at 2000 mg/KgBB doses for two weeks and at 1500 mg/KGBB dose for one week.

## ABSTRACT

### The Activity Of *Morinda Citrifolia* Linn Extract Administration On The Superoxide Dismutase And Malonaldehyde Enzym In Male White Rats With Alloxan Induced

Type I diabetes is thought to occur as a result of loss insulin-producing pancreatic  $\beta$  cells by environmentally triggered increased free radicals. In rodent model of diabetic, alloxan, a genotoxic methylating agent that targeted to  $\beta$  cells and hepar tissue, is used to trigger the initial death.

The objective of study was to find out the influence of *morinda citrifolia* linn extract on the antioxidant effect against alloxan induced free radicals in rats. The rats were divided randomly into six group. Alloxan was dissolved in aquabidest and injected intraperitoneally, either as a single dose of 115 mg/kg. One week after alloxan treatment, the *Morinda citrifolia* linn extract was administered by nasogastric tubing at a dose of 1500 mg/kg of body weight and 2000 mg/kg of body weight for one weeks, and at a dose of 2000 mg/kg of body weight for two weeks. Positif control groups were similarly injected with vehicle only and negatif control group one (was not injected alloxan and neither administered *morinda citrifolia* linn).

The results obtained with groups from each study were first analyzed using analysis of variance. Groups that showed different were further analyzed bay LSD test. The result of first study showed the *morinda citrifolia* extract of 2000 mg/Kg BW for one week or two weeks was successfully increased superoxide dismutase enzyme, but not at 1500 mg/KgBW dose.

The result of second study showed the *morinda citrifolia* extract of 2000 mg/Kg BW or 1500 mg/KgBW doses for one week was successfully decreased malonaldehyde enzyme, but not at 2000 mg/KgBW dose for two weeks.

The result of third study showed a significant different between the control and treatment groups with *morinda citrifolia* linn against alloxan induced in rats ( $p=0.0000$ ).

From the result suggest that the *norinda citrifolia* linn extract has antioxidant effect which dose dependent manner.

Key words : *Moinda Citrifolia* linn, antioxidant, superoxide dismutase and malonal dehide.

## DAFTAR ISI

Sampul Depan .....	i
Sampul Dalam .....	ii
Prasyarat Gelar .....	iii
Pengesahan .....	iv
Penetapan Panitia .....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Summary.....	vii
Abstrak .....	viii
Daftar Isi .....	ix
Daftar Tabel .....	xi
Daftar Gambar .....	xii
Daftar Lampiran .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Tinjauan tentang Tanaman Mengkudu.....	6
2.1.1 Klasifikasi tanaman .....	6
2.1.2 Sejarah Mengkudu .....	6
2.1.3 Kandungan Tanaman Mengkudu .....	7
2.1.4 Khasiat Mengkudu .....	8
2.2 Metabolisme obat di hepar .....	9
2.3 Darah .....	10
2.4 Fisiologi dan Patologi Radikal Bebas .....	10
2.2.1 Macam dan Asal Pembentukan Radikal Bebas .....	11
2.2.2 Dampak Radikal Bebas Pada sel tubuh Manusia .....	15
2.5 Alloxan dan Radikal Bebas .....	18
2.6 Pertahanan Tubuh Terhadap Oksidan .....	19
<b>BAB III : KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>22</b>
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian .....	22



3.2 Hipotesis Penelitian.....	23
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	25
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Sampling .....	26
4.3 Variabel Penelitian .....	27
4.3.1 Klasifikasi Variabel .....	27
4.3.2 Definisi Operasional .....	28
4.4 Bahan Penelitian .....	29
4.4.1 Hewan Coba .....	29
4.4.2 Bahan untuk perlakuan .....	29
4.4.3 Bahan Untuk pemeriksaan .....	30
4.5 Prosedur Penelitian .....	31
4.6 Lokasi Dan Penelitian .....	32
4.7 Analisis Data .....	33
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA .....</b>	<b>34</b>
5.1 Hasil Pengamatan .....	34
5.2 Hasil Pengukuran Enzim SOD .....	34
5.3 Hasil Pengukuran Enzim MDA .....	37
<b>BAB VI : PEMBAHASAN .....</b>	<b>40</b>
6.1 Aktifitas Enzim SOD .....	41
6.2 Aktifitas MDA .....	44
<b>BAB VII : KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>49</b>
7.1 Kesimpulan .....	49
7.2 Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>54</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Analisis Deskriptif variabel enzim SOD.....	34
Tabel 4.2 Hasil Analisis Normalitas Data enzim SOD .....	35
Tabel 4.3 Hasil Analisis Homogenitas variabel enzim SOD.....	35
Tabel 4.4 Hasil Analisis Anova enzim SOD .....	36
Tabel 4.5 Hasil Analisis LSD .....	36
Tabel 4.6 Hasil Analisis Deskriptif variabel MDA .....	37
Tabel 4.7 Hasil Analisis Normalitas Data MDA .....	38
Tabel 4.8 Hasil Analisis Homogenitas variabel MDA .....	38
Tabel 4.9 Hasil Analisis Anova MDA .....	38
Tabel 4.10 Hasil Analisis LSD MDA.....	39



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme kerja sinergisme antioksidan .....	21
Gambar 2.2 Kerangka Konseptual .....	23
Gambar 2.3 Design Penelitian .....	25



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rumus Perhitungan Jumlah sample .....	54
Lampiran 2 Prosedur Pemeriksaan MDA .....	55
Lampiran 3 Prosedur pemeriksaan SOD .....	56
Lampiran 4 Komposisi Pakan Tikus .....	57
Lampiran 5 Daftar Berat Badan Hewan Coba .....	58
Lampiran 6 Daftar Dosis Pemberian Perlakuan Hewan Coba.....	59
Lampiran 7 Hasil Pemeriksaan Kadar enzim SOD dan MDA .....	60
Lampiran 8 Diagram Rerata Kadar Enzim SOD dan MDA .....	61
Lampiran 9 Analisis Data enzim SOD dan MDA .....	62



## DAFTAR SINGKATAN

DVCs : Diabetic Vascular Complications . . . . .	2
MDA : Malonaldehyde . . . . .	3
SOD : Superoxide Dismutase . . . . .	3
MFO4 : Mixed function oxidases . . . . .	10
ROS : Reactive oxygen species . . . . .	11
NBT : Nitroblue Tetrazolin . . . . .	44



## BAB I

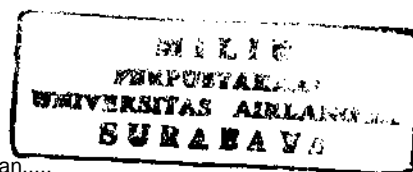
### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu Negara yang beriklim tropis yang menunjang tumbuhnya beraneka ragam tumbuhan. Hal ini merupakan potensi tersendiri untuk ditelaah, dimanfaatkan dan dilestarikan keberadaannya, yang semuanya ditujukan untuk kesejahteraan manusia. Melihat potensi hayati Indonesia yang besar, maka perhatian terhadap tanaman berkhasiat obat semakin meningkat yang didorong oleh adanya kampanye "*back to nature and consume less chemical*". Walaupun secara empiris pengetahuan tentang tanaman obat sudah diketahui secara turun temurun, namun pembuktian secara ilmiah yang bertujuan untuk mengembangkan manfaat tanaman tersebut serta menguji efektifitas dan keamanan untuk dikonsumsi sangat diperlukan oleh masyarakat.

Salah satu tanaman yang diduga mengandung bahan aktif sebagai antioksidan adalah mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang banyak tumbuh di berbagai daerah di Indonesia. Beberapa kandungan buah mengkudu yang berperan sebagai antioksidan antara lain beta carotene dan vitamin C. Disamping buahnya bahan yang dapat digunakan sebagai obat berasal dari tanaman ini adalah daun, kulit batang dan akar (Maat, 2001).

Antioksidan dan antiradical bebas diperlukan untuk menghambat fungsi radikal bebas dan oksidan atau menurunkan produksi radikal bebas dan oksidan yang dapat menyebabkan suatu keadaan stress oksidasi. Jika oleh suatu sebab jumlah oksidan dan radikal bebas dalam tubuh sangat berlebih



dibandingkan antioksidannya, maka terjadilah keadaan stress oksidasi dengan berbagai manifestasinya. Dampak negatif radikal bebas dan oksidan ini pada sel tubuh manusia antara lain kerusakan membran sel, kerusakan pada DNA yang dapat mengganggu replikasi sel, mutasi sel yang lebih jauh menuju pada degenerasi jaringan dan hal ini yang menjadi penyebab dan mendasari berbagai keadaan patologis seperti penyakit kardio vaskuler, gangguan sistem tanggap kebal, karsinogenesis bahkan dicurigai ikut berperan dalam proses penuaan (*Aging*) (Purnomo, 2000).

Hiperglikemia (diabetes mellitus) merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh peningkatan radikal bebas dan peroksidasi lemak. Bahkan kelebihan produksi *reactive oxygen species* (ROS) pada diabetes mellitus, diperkirakan berperan penting pada terjadinya komplikasi vaskuler diabetes mellitus atau DVCs (*Diabetic Vascular Complications*). Penyakit diabetes mellitus masih menjadi masalah besar di Indonesia, angka kesakitan dan komplikasi akibat diabetes mellitus seperti trombosis serebri, penyakit jantung koroner, nefropati, retinopati, gagal ginjal, gangrene dan komplikasi lainnya terus meningkat, sehingga upaya penanggulangan sulit dilakukan dengan baik (Tjokropawiro, 1993). Penyakit ini tak dapat disembuhkan tetapi dapat dihambat dan dikendalikan perkembangannya (Gunawan, 1993). Biaya pengobatan yang mahal, pengobatan yang berulang bahkan seumur hidup, merupakan masalah yang mempersulit pengobatan diabetes mellitus.

Sehubungan dengan permasalahan di atas maka pemberian antioksidan dan antiradikal bebas yang berasal dari tanaman berkhasiat obat yang mudah

didapat, murah serta memenuhi persyaratan pengobatan yaitu aman, berkhasiat, logis dan mudah dalam pelaksanaannya, akan membantu menurunkan prevalensi morbiditas dan mortalitas penyakit diabetes mellitus.

Banyak macam anti oksidan, dari beberapa penelitian sebelumnya buah mengkudu juga bermanfaat sebagai antioksidan dan pengobatan terhadap berbagai efek proses *aging*. Sebagaimana disampaikan dalam *bulletin of the National Botanical Garden* (1985), Ralph M. Heinicke. di University of Hawaii menemukan bahwa Ekstrak buah mengkudu dapat mengendalikan tekanan darah tinggi, nyeri haid, arthritis, radang usus, , gangguan pencernaan, atheroseklerosis, depresi mental hingga kecanduan narkoba, penyakit akibat ketuaan (*aging process*). Bahkan menurut peneliti Jepang T. Hiramatsu dan rekannya(1993), ekstrak buah mengkudu terbukti paling efektif daya bunuhnya terhadap pertumbuhan kultur sel kanker. Bahkan di Karibia, salah satu kepulauan di Pasifik Selatan, noni dijuluki “ *the Pain Killer Tree*” karena kemampuannya menyembuhkan beragam jenis penyakit.

Pada penelitian ini, ingin dibuktikan bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu akan mempengaruhi aktifitas enzim *superoxide dismutase* (SOD) dan malonaldehyde (MDA) pada tikus dewasa yang diinduksi dengan pemberian alloxan 115 mg/Kg secara intraperitoneal. Ekstrak mengkudu diperoleh melalui buah segar yang dikeringkan sampai kadar air 10%, kemudian digiling dan disaring, selanjutnya direndam etanol 96% selama 24 jam, kemudian diperkolasi hingga perkolat tidak berwarna, sehingga diperoleh ekstrak kental. Melalui tehnik ekstraksi ini diharapkan akan diperoleh komponen aktif yang hampir sama, apabila mengkudu diminum langsung



seperti yang dilakukan masyarakat awam. Dipilih ekstrak buah mengkudu yang sudah masak karena diduga mengandung bahan yang dapat menurunkan oksidan dan radikal bebas alam tubuh.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas maka rumusan permasalahannya adalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian larutan ekstrak buah mengkudu secara oral dapat meningkatkan aktifitas enzim *Superoksida Dismutase* (SOD) pada tikus yang mengalami diabetes mellitus yang diinduksi dengan alloxan secara intraperitoneal?
2. Apakah pemberian larutan ekstrak buah mengkudu secara oral dapat menurunkan *Malonaldehid* (MDA) pada tikus yang mengalami diabetes mellitus yang diinduksi dengan alloxan secara intraperitoneal?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mempelajari efektifitas suplementasi ekstrak buah mengkudu terhadap aktifitas radikal bebas dan oksidan pada tikus yang diinduksi dengan alloxan.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mempelajari peningkatan kadar *Superoksida desmutase* (SOD) pada tikus akibat diabetes mellitus setelah pemberian larutan ekstrak buah mengkudu secara oral
2. Mempelajari penurunan kadar *monaldehid* (MDA) pada tikus akibat diabetes mellitus setelah pemberian larutan ekstrak buah mengkudu secara oral .

#### 1.4 Manfaat Penelitian

- a. Hasil penelitian ini dapat dipergunakan sebagai obat suportif untuk mencegah kerusakan sel tubuh serta penyakit akibat peningkatan ROS
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menunjang program pemerintah untuk memanfaatkan tanaman berkhasiat obat yang banyak tumbuh di Indonesia.
- c. Hasil penelitian dapat menjadi pegangan untuk mengembangkan manfaat ekstrak buah mengkudu dalam rangka memenuhi kebutuhan obat dimasyarakat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan tentang Tanaman Mengkudu

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Mengkudu termasuk tumbuhan Divisi *Spermatophyta*, Sub Divisi *Angiospermae*, klas *Dicotyledoneae*, Sub klas *Sympetalae*, Bangsa *rubiales*, family kopi-kopian (*Rubiaceae*), Genus *Morinda*, Species *Morinda citrifolia Linn*, yang pada mulanya berasal dari wilayah daratan Asia Tenggara dan kemudian menyebar sampai ke Cina, India, Filipina, Hawaii, Afrika, Australia, Karibia, Haiti, Fijia, Florida dan Kuba (James Hutagalung, 1999)

Tanaman mengkudu merupakan tanaman berdaun hijau bentuk buah dengan tonjolan besar kehitaman dikulitnya, rasanya tidak pahit, tetapi baunya sangat tidak sedap, terutama buah yang sedang masak. Bau ini sulit dihilangkan. Bagi beberapa kalangan mengkudu muda sering dibuat rujak, rasanya asam dengan bau yang tidak kentara. Pohonnya cukup tinggi, tapi daunnya tidak rimbun dan hidup di daerah pantai sampai ketinggian 400 m di atas permukaan laut.

##### 2.1.2 Sejarah Mengkudu

Masyarakat kuno yang dikenal sebagai French Polynesia, kepulauan yang terletak di samudra Pasifik, merupakan penemu tanaman noni. Secara tradisional ekstrak noni diyakini penduduk asli setempat dapat menghilangkan rasa sakit dan menenangkan syaraf. Bahkan di Karibia, salah satu kepulauan di

Pasifik Selatan, noni dijuluki “ *the Pain Kliller Tree*” karena kemampuannya menyembuhkan beragam jenis penyakit.

Oleh leluhur bangsa Polinesia ini, noni dibawa melanglang ke kepulauan Pasifik hingga ke Indonesia. Karena iklim tropis yang sama akhirnya tanaman ini berkembang biak dan menjadi banyak serta hampir tersebar diseantero nusantara. Noni, yang mempunyai nama botani *Morinda Citrifolia linn*, di Indonesia tak lain adalah mengkudu.

Di beberapa daerah di Indonesia *Moinda Citrifolia* mempunyai beberapa nama daerah antara lain :

- Sumatera : Keumudu (Aceh), Bakudu (Batak), Pangkudu (Batak Toba), Makudu(Nias) Bingkudu (Minangkabau), Mekudu (Lampung), Bengkudu (Melayu)
- Jawa : cangkudu , kudu (Sunda) Jawa Barat, kodhu (Madura), Pace (Jawa Tengah) untuk buah yang sudah matang atau khudu untuk buah yang masih mentah pada sebutan di Jawa Timur dan Jawa Tengah.
- Bali : wengkhudu
- Indonesia : bantis

### 2.1.3 Kandungan Tanaman *Morinda Citrifolia Linn*

Zat kandungan *Morinda Citrifolia Linn* tergolong dalam minyak terbang kuning yang 90% terdiri atas metyl dan asetyl ester dari kapron dan asam kaprilat.

**Buahnya** mengandung Asperuloside, beta-Karotene, Asam Kaproik, Asam Kaprilik, Asam Sitrat, *Ethyl Caproate*, *Ethyl Caprylate*, Glukosa, *Malic Acid*,

*Pectin*, Gula; **Daunnya** mengandung, Antrakuinon, Beta –Karotin, beta-Sitosterol, Calcium, Karbohidrat (24%), lemak (21%), serat (11%), besi, Niasin, fenol, fosfor, protein (12%), vitamin C; **Akar** mengandung antrakoinon.

#### 2.1.4 Khasiat Mengkudu

Di Hawaii, Amerika Serikat, buah mengkudu dikenal sebagai buah noni, yang dipercaya oleh penduduk asli memiliki nilai pengobatan luar biasa sehingga disebut juga “*The Hawai Magic Plant*”. Khasiat noni menjadi dasar pengobatan tradisional di kawasan itu dan bagi khasnas (dukun Hawaii) tiada ramuan tanpa noni.

Menurut Heinicke (1985) buah mengkudu mengandung komponen bioaktif, alkaloid alami yang disebut xeronine atau dalam bentuk calon precursor yang oleh alat pencernaan tubuh diubah menjadi senyawa aktif. Ketika dilepaskan, xeronin secara nyata bekerja pada tingkat molekuler untuk memperbaiki sel yang rusak. Fungsi primer *xeronin* adalah mengatur kekakuan dan ukuran protein tertentu. Karena perbedaan fungsi protein dalam sel ini, menjelaskan bagaimana *juice* buah mengkudu mempunyai respon fisiologi yang luas dan tak dapat dipercaya. Buah mengkudu merupakan *fitonutrient nourish* sel, jaringan dan organ tubuh, juga melawan kerusakan yang disebabkan oleh penuaan, bahan kimia yang berbahaya dan polusi. Buah mengkudu juga mengandung senyawa alkaloid yang diduga mampu bekerja secara sinergistik dalam penyembuhan penyakit dan selenium yang merupakan antioksidan alami. Dari hasil penelitian yang telah terkumpul diketahui mengkudu secara umum

mampu merangsang system kekebalan, pengaturan fungsi sel dan regenerasi seluler dari sel-sel yang mengalami kerusakan.

## 2.2 Metabolisme Obat di Hepar

Untuk mengakhiri efek farmakologis suatu substrat, maka substrat tersebut harus dieliminasi dari dalam tubuh. Eliminasi substrat meliputi dua proses yaitu metabolisme (biotransformasi) dan ekskresi. Substrat yang mempunyai berat molekul rendah (<300) atau yang larut dalam air akan diekskresi melalui ginjal, sedang substrat yang bersifat lipolitik dan tidak terionisasi pada pH fisiologis sulit diekskresi oleh ginjal, sehingga harus dimetabolisme terlebih dahulu di hepar (Correria, 1998).

Metabolisme substrat dibagi menjadi dua kelompok reaksi, yaitu reaksi fase I dan fase II. Reaksi fase I merupakan reaksi asintetik meliputi oksidasi reduksi dan hidrolisis. Reaksi II adalah reaksi sintetik yang meliputi konjugasi molekul substrat dengan substrat endogen seperti gugus glukoronid, asetil atau sulfat (Correria, 1998).

Beberapa substrat metabolismenya terletak pada membrane lipofilik dari reticulum endoplasmic hepar. Jika lapisan tersebut diisolasi dengan homogenisasi dan fraksinasi sel akan terbentuk vesikel yang disebut mikrosom. Mikrosom terdiri dari dua; mikrosom kasar (reticulum endoplasmic kasar, dengan ribosom) berperan dalam sintesa protein dan mikrosom halus (reticulum halus, tanpa ribosom) yang kaya dengan enzim yang dibutuhkan dalam metabolisme oksidasi substrat. Enzim tersebut termasuk *mixed function oxidases* (MFO4) atau

monooksigenase. Aktifitas enzim ini membutuhkan NADPH sebagai pereduksi dan oksigen molekuler (Polini, 1996, Correrio, 1998).

### **2.3 Darah**

Darah tersusun dari plasma dan berbagai sel yaitu eritrosit (sel darah merah) eritrosit (sel darah putih dan keping darah (trombosit). Penelitian dengan sel darah banyak dilakukan, karena sel darah mudah diperoleh dan memiliki makna fungsional yang penting dan terlibat dalam banyak prose terjadinya penyakit (Murray, 1999, P755)

Eritrosit memiliki fungsi utama yang relatif sederhana, dan terdiri atas fungsi untuk menyampaikan  $O_2$  ke jaringan dan membantu mengeluarkan  $CO_2$  serta proton yang terbentuk oleh metabolisme jaringan. Beberapa aspek penting metabolisme sel darah merah adalah sel darah merah memiliki beragam transporter yang mempertahankan keseimbangan ion dan air, Glutation pereduksi (GSH) penting dalam metabolisme sel darah sebagai bagian dari kerja meniadakan peroksida beracun yang potensial; Sel darah merah dapat mensintesis GSH dan membutuhkan NADPH untuk mengembalikan glutathion teroksidasi (G-S-S-G) kembali ke keadaan tereduksi (Murray, 1999, P757).

### **2.4 Fisiologi Dan Patologi Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah salah satu produk reaksi kimia dalam tubuh. Senyawa kimia ini sangat reaktif dan mengandung satu atau lebih electron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga sebagian besar radikal bebas bersifat tidak stabil. Radikal bebas dapat bertindak sebagai reduktor dengan

melepaskan elektronnya yang tidak berpasangan ( *a reducing radical*), atau bertindak sebagai oksidator dengan menerima electron ( Halliwell, 1991). Dalam arti klinik, oksidan dan radikal bebas sering disamakan karena keduanya banyak memiliki persamaan sifat. Radikal bebas adalah oksidan tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas. Radikal bebas ini bersifat magnetic dan sangat reaktif sehingga dapat merusak sel-sel tubuh dengan akibat yang menyertainya (Cochrane, 1991).

Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan oksidan yang bukan radikal bebas. Hal ini karena sifat radikal bebas yaitu reaktivitasnya yang tinggi dan kecenderungannya untuk membentuk radikal baru lagi sehingga terjadi reaksi berantai (*chain reaction*). Reaksi rantai baru berhenti apabila radikal bebas tersebut dapat diredam (*quenched*) (Purnomo, 1996).

## 2.4.1 Macam Dan Asal Pembentukan Radikal Bebas

### 2.4.1.1 Radikal Bebas di Dalam Tubuh

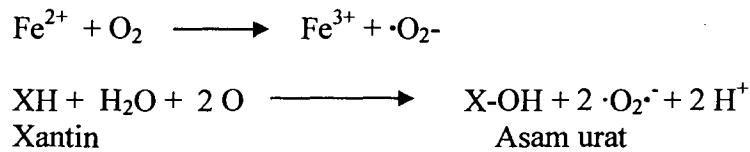
Oksigen ( $O_2$ ) merupakan diradikal yang stabil, oleh karenanya  $O_2$  merupakan pereaksi radikal bebas yang selektif. Melalui system enzim dalam tubuh  $O_2$  dapat berubah menjadi *reactive oxygen species* (ROS). Species oksigen ini antara lain :

#### 1) Radikal bebas oksigen (Anion Superoksida = $O_2^{\cdot-}$ )

Superoksida merupakan hasil dari penambahan satu electron pada  $O_2$ . Secara normal radikal superoksida diproduksi di dalam tubuh melalui proses enzimatik dan non enzimatik seperti electron transport di mitokondria, reaksi hidroksilasi pada endoplasmic retikulum, reaksi xantin oksidase pada



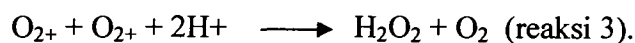
pembentukan urat, auto oksidase katekolamin yang semuanya merupakan proses biokimia yang penting untuk kelangsungan proses fisiologis tubuh (Halliwell & Gutteridge, 1997). Superoksida yang terbentuk dalam sel darah merah melalui oto oksidasi  $O_2 + e \longrightarrow O_2^+$  (reaksi 1); dalam jaringan lain, superoksida dibentuk melalui kerja enzim seperti P450 reduktase dan xantin oksidase.



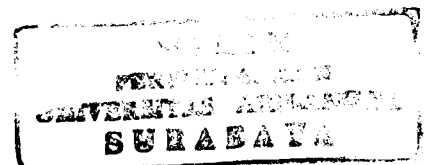
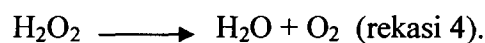
Ketika distimulasi oleh kontak bakteri, neutrofil akan memperlihatkan ledakan yang respiratorik dan memproduksi superoksida dalam sebuah reaksi yang dikatalisasi oleh enzim NADPH – oksidase.



Superoksida secara spontan mengalami dismutasi sehingga terbentuk  $H_2O_2$  dan  $O_2$ , akan tetapi kecepatan reaksi ini akan mengalami peningkatan yang luar biasa akibat kerja enzim *superoksid dismutase* (SOD)



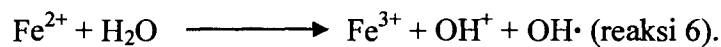
Ion  $Fe^{2+}$  pada Hb rentan terhadap oksidasi oleh oksidan (ion superoksid). Dimana terbentuk metHb yang tidak mampu mengangkut oksigen. Enzim katalase yang terdapat dalam banyak sel akan mengubah hydrogen peroksida menjadi  $H_2O_2$  dan  $O_2$



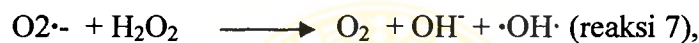
Enzim *glutation peroksidase* yang mengandung selenium akan bekerja pada glutation tereduksi (GSH) dan  $H_2O_2$  untuk memproduksi glutation tereduksi (GSSG) dan  $H_2O$



enzim ini dapat pula menggunakan peroksidase lainnya sebagai substrat.  $OH^\circ$  dan  $OH^-$  dapat terbentuk dari  $H_2O_2$  dalam sebuah reaksi non enzimatis yang dikatalisasi oleh ion  $Fe^{2+}$  (reaksi Fenton),



$O_2^-$  dan  $H_2O_2$  merupakan substrat dalam reaksi **Haber-Weiss** yang dikatalisasi oleh besi



yang juga memproduksi  $OH^\cdot$  dan  $OH^-$ .  $H_2O_2$  ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom dan dapat menembus membran sel.  $H_2O_2$  merupakan oksidan yang kuat karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa. (Darmawan, 1996) (Muray, 1999) (Purnomo, 2000)

## 2) Radikal hidroksil ( $\cdot OH$ )

Radikal hidroksil dapat terbentuk melalui : radiasi sel yang dapat menyebabkan pecahnya ikatan kovalen antara hydrogen dan oksigen, radiasi pada  $H_2O_2$  sehingga terjadi homolitik fussion, reaksi fenton, reaksi **Haber Weiss** yaitu adanya superoksida yang bersama dengan  $H_2O_2$  yang akan menghasilkan radikal hidroksil. Asam lemak tak jenuh sangat peka terhadap radikal hidroksil. Kemampuan yang khas dari radikal hidroksil adalah membentuk reaksi rantai melalui terjadinya abstraksi satu atom hydrogen dari membran sel dan terjadilah

reaksi peroksidasi lemak. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya asam lemak menjadi senyawa-senyawa malonaldehid (MDA), 9-hidroksil-nonenal, etana dan pentana yang kesemuanya memiliki daya perusak yang tinggi terhadap sel – sel tubuh. Malonaldehid digunakan sebagai indeks pengukuran aktifitas radikal bebas dalam tubuh (Gutteridge, 1990).

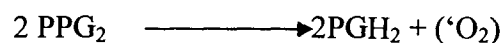
### 3) Singlet Oksigen ( $^1\text{O}_2$ )

Merupakan bentuk oksigen yang jauh lebih reaktif dibandingkan oksigen biasa (oksigen dalam bentuk ground state atau disebut sebagai triplet oksigen). Singlet oksigen terbentuk pada reaksi – reaksi yang dikatalis oleh enzim-enzim tertentu antara lain :

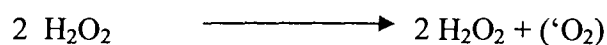
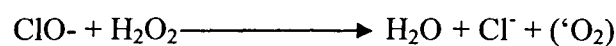
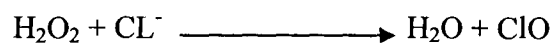
- a. Enzim mono-oksigenase yang menggunakan sitokrom P450, apabila enzim tersebut menggunakan suatu peroksida sebagai substrat



- b. Enzim prostaglandin endoperoksida sintetase, suatu enzim yang berperan dalam pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat.



- c. Reaksi yang dikatalis oleh enzim mieloperoksidase apabila ion hipoklorit yang terjadi bereaksi dengan  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang kedua :



(Purnomo, 2000)

### 2.4.1.2 Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh

Radikal dari luar tubuh dipicu pembentukannya oleh bahan eksogen seperti asap rokok, ozone, nitrogen oksigen, asap kendaraan bermotor, substansi kimia, makanan, alkohol, *food addiktif*, substrat anti kanker dan bahan dari luar yang dapat memicu terjadinya radikal bebas dalam sel dapat dilihat pada pemakaian *nitrofurantoin*, *bleomicin*, *herbicide paraquat* dan *doxorubicin*.

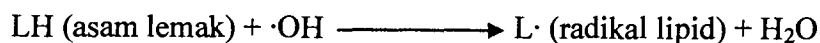
## 2.4.2 Dampak Radikal Bebas Pada Sel Tubuh Manusia

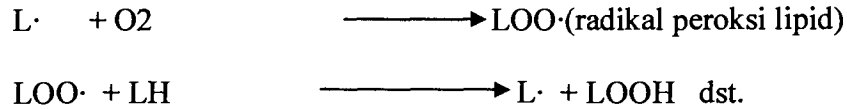
### 2.4.2.1 Dampak Negatif

Dampak negatif senyawa- senyawa radikal bebas timbul karena reaktifitasnya sehingga dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan. Diantara senyawa-senyawa oksigen reaktif dan radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktifitas yang sangat tinggi. Radikal hidroksil dapat merusak jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas, yaitu :

#### 1) Membran sel

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Fosfolipid dan glikolipid mengandung asam lemak tak jenuh (asam linoleat, linolenat dan arakidonat) yang justru rawan terhadap serangan – serangan radikal, terutama hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai peroksidasi lipid.





Akibat akhir dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain aldehida-aldehida seperti malonaldehid, 9-hidroksi-nonentral serta berbagai berbagai hidrokarbon seperti etana ( $C_6H_6$ ) dan pentana ( $C_5H_{12}$ ). Dapat pula terjadi cross-linking antara dua rantai asam lemak antara asam lemak dan rantai peptida yang timbul karena reaksi dua radikal.



Semua itu akan mengakibatkan kerusakan parah membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel (Purnomo, 2000)

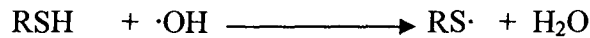
## 2) DNA

Radikal hidroksil dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA antara lain berupa hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tak terlalu parah, maka masih bisa diperbaiki oleh *DNA repair system*. Namun bila kerusakan terlalu parah misalnya rantai DNA terputus-putus diberbagai tempat kerusakan tersebut tak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu. Susahnya, perbaikan DNA ini justru sering menimbulkan mutasi, karena dalam memperbaiki kerusakan DNA tersebut, sistem perbaikan DNA cenderung membuat kesalahan (*error prone*), dan apabila mutasi ini mengenai gen-gen tertentu yang disebut

protoonkogen, mutasi tersebut dapat menimbulkan kanker (Purnomo, 1993, 2000).

### 3) Protein

Oksidan dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam-asam amino yang menyusun protein tersebut. Diantara asam-asam amino penyusun protein, yang paling rawan adalah sistein. Sistein mengandung gugusan sulfhidril (SH) dan justru gugusan inilah yang paling peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil.



Pembentukan ikatan disulfida menimbulkan ikatan intra atau antara molekul protein sehingga protein tersebut kehilangan fungsi biologisnya (misalnya enzim kehilangan aktifitasnya) (Purnomo, 1993) (Siregar P, 1992)

#### 2.4.2.2 Dampak Positif

Oksidan menimbulkan banyak kerugian, tetapi justru dampak negatif ini dimanfaatkan oleh tubuh untuk melawan serbuan mikroorganisme patogen. Untuk melawan mikroorganisme patogen tersebut terdapat sel-sel radang (*inflammatory cell*) seperti sel sel granulosit, monosit dan makrofag yang dapat menghasikan oksidan seperti  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{ClO}^-$  dan  $^1\text{O}_2$ . Namun selain dapat menghancurkan mikroorganisme patogen, oksidan tersebut dapat pula merusak sel

jaringan tubuh, sehingga bila terjadi peradangan hebat yang melibatkan banyak sel radang juga terjadi kerusakan jaringan tubuh (Purnomo, 1993).

## 2.5 Alloxan dan Radikal Bebas

Toksin siklus rendah yang mengandung alloxan, pertama kali dikenal sebagai agen diabetogenik pada tahun 1943. Injeksi pada hewan menyebabkan degenerasi sel  $\beta$  pada pulau Langerhans pancreas, dimana sel ini mensintesis hormone insulin. Alloxan sering digunakan untuk menginduksi diabetes pada percobaan hewan. Reduksi dua electron pada alloxan memberikan asam hialuric, suatu sitotoksik pirimidin yang mempunyai struktur yang menyerupai agen divisi hemolitik dan isouramil.

Suatu radikal intermedia, dibentuk dengan reduksi satu electron pada alloxan (atau oksidasi satu electron pada asam dialuric). Juga dapat terjadi akibat ketidakstabilan asam dialuric dalam larutan air dan mengalami oksidasi yang sama pada alloxan, yang disertai dengan reduksi  $O_2$  menjadi  $O_2^{\cdot-}$ . Oksidasi asam hialuric dipercepat dengan transisi muatan  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$  dan  $OH^{\cdot}$ ; kemungkinan selanjutnya dengan reaksi Fenton. Sebenarnya larutan hialuric yang diobservasi merangsang peroksidasi lipid in vivo dan penghambat pertumbuhan beberapa strain bakteri.

Oleh karena itu, beberapa jaringan yang dapat mengambil dan mengurangi alloxan akan beresiko pada stres oksidatif. Ketika alloxan diinjeksikan pada tikus akan terakumulasi pada pulau langerhans dan hati. Dimana hati mengandung aktifitas tinggi SOD katalase dan glutathion peroksidase. Aktifitas enzim ini dalam sel  $\beta$  moderat. Lebih jauh isolasi sel  $\beta$ , dapat mengurangi alloxan dalam sel sampai asam hialuric dengan rerata yang tinggi. Reduksi ini mungkin melibatkan

GSH, theoreduksin dan/atau glutareduxin. Yakni memungkinkan kombinasi cepat reduksi alloxan dan pertahanan antioksidan medioc yang membuat sel  $\beta$  sensitive terhadap alloxan. In vivo sel  $\beta$  juga sensitive bahkan rusak dengan pemberian  $\text{NO}\cdot$  dan  $\text{ONOO}\cdot$  yang berlebihan.

Begitu juga alloxan yang terisolasi pada sel  $\beta$  menyebabkan kerusakan membrane dan kematian sel. Pengaruh – pengaruh tersebut dapat dikurangi dengan penambahan SOD, katalase,  $\text{OH}\cdot$  scavenger (meliputi manitol dan dimethylsulphoxide) atau bese chelator seperti betapac. Rangkaian DNA rusak pada sel  $\beta$  tikus yang diberi alloxan.

## 2.6 Pertahanan Terhadap Oksidan : Anti Oksidan

Senyawa kimia dan reaksi yang dapat menghasilkan spesies oksigen yang potensial bersifat toksik dinamakan pro-oksidan. Sebaliknya, senyawa dan reaksi yang mengeluarkan spesies oksigen tersebut, memangsanya, menekan pembentukannya atau melawan kerjanya disebut antioksidan. Senyawa-senyawa oksigen reaktif terjadi akibat proses-proses biologis normal, namun apabila aktifitas senyawa-senyawa tersebut tak diredam, maka oksigen pembawa kehidupan organisme aerobik akan berbalik menjadi racun yang mematikan, dan organisme aerobik dan menyebabkan kematian. Namun organisme aerobik tersebut dapat bertahan karena alam menyediakan sarana untuk meredam dampak negatif oksidan, yaitu senyawa anti oksidan.

Dalam arti kimia, senyawa-senyawa antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Namun dalam arti biologis, pengertian antioksidan lebih luas, yaitu merupakan senyawa-senyawa yang dapat meredam



dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam. Dalam meredam dampak negatif oksidan diterapkan strategi dua lapis yaitu

- a) Mencegah terhimpunnya senyawa-senyawa oksidan yang berlebihan dan
- b) mencegah reaksi rantai berlanjut.

Berdasarkan dua mekanisme pencegahan dampak negatif oksidan, maka antioksidan dibagi menjadi dua golongan, yaitu anti oksidan pencegah dan anti oksidan pemutus rantai.

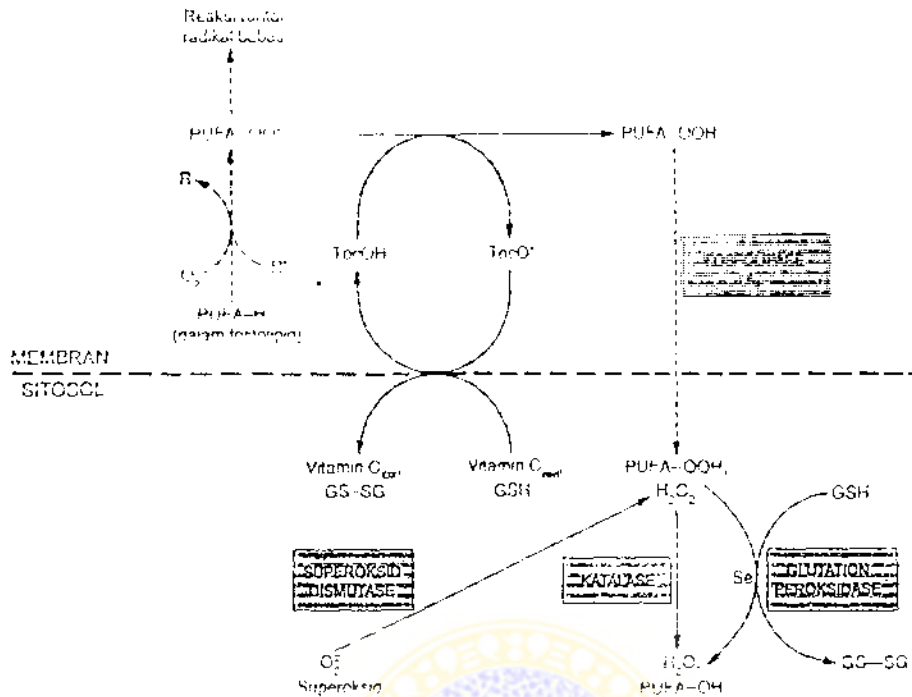
#### 1) Antioksidan Pencegah

Pada dasarnya tujuan anti oksidan jenis ini adalah mencegah terjadinya radikal hidroksil. Seperti telah dibicarakan sebelumnya, untuk membentuk radikal hidroksil diperlukan tiga komponen yaitu logam transisi Fe atau Cu,  $H_2O_2$  dan  $O_2^{\cdot-}$ . Agar reaksi fenton tak terjadi, maka harus dicegah keberadaan ion  $Fe^{++}$  atau  $CU^+$  bebas. Untuk itu berperan beberapa protein penting yaitu untuk Fe : **tranferin** atau **feritin** dan untuk Cu: **seruloplasmin** atau **albumin**. Penimbunan  $O_2^{\cdot-}$  dicegah oleh enzim **superoksida dismutase (SOD)** yang mengkatalisis reaksi dismutasi  $O_2^{\cdot-}$ .

#### 2) Anti-oksidan Pemutus Rantai

Dalam kelompok anti oksidan ini termasuk vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam ascorbat),  $\beta$ - karoten dan dua senyawa yang juga berperan sebagai anti oksidan pencegah yaitu glutathion dan sistein. Vitamin E dan  $\beta$ -karoten bersifat lipofilik, sehingga berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidasi lipid. Sebaliknya Vitamin C, glutathion dan sistein bersifat hidrofilik dan berperan dalam sitosol.

Mekanisme cara kerjanya adalah sebagai berikut :



Gambar 2.3 Interaksi dan sinergisme antara system antioksidan yang bekerja dalam fase lipid sel dan fase aqueus (Murray K et al, 1999)

Eritrosit dilengkapi antioksidan berupa enzim seperti copper-zink-*superoxide dismutase* (CuZn-SOD), *glutation peroksidase* (GSH-PX), katalase (CAAT) dan *glutation reduktase* (Anderson, 1997) (Murray, 1999). Sintesis antioksidan yang berupa enzim dalam eritrosit ini terjadi selama erythropoesis. Sedangkan pada eritrosit dewasa, enzim – enzim ini tidak disintesis lagi, hal ini berkaitan dengan menghilangnya inti sel pada eritrosit dewasa (Beutler et al, 1995). Sedangkan sebagai peredam dampak negatif ROS dalam penelitian ini akan digunakan antioksidan pemutus rantai yaitu ekstrak buah mengkudu.

## **BAB III**

### **KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS**

#### **3.1 Dasar Teori**

Berdasarkan penelaahan pustaka yang telah diuraikan di atas, diperoleh dasar teori sebagai berikut :

1. Tubuh manusia melalui proses enzimatik maupun non enzimatik memproduksi radikal bebas dan oksidan yang berupa radikal bebas oksigen, radikal hidroksil dan singlet oksigen yang berasal dari tubuh sendiri yaitu senyawa – senyawa yang sebenarnya berasal dari proses – proses fisiologis, namun oleh suatu sebab terdapat dalam jumlah besar dan yang berasal dari proses peradangan, yang berasal dari radiasi ataupun yang berasal dari luar tubuh seperti obat-obatan dan senyawa pencemar.
2. Alloxan merupakan substansi yang mengandung radikal bebas dan dapat menghasilkan radikal bebas.
3. Radikal bebas dapat bertindak sebagai oksidator (menerima electron) dan sebagai reduktor (melepaskan electron)
4. Pemberian alloxan terbukti menyebabkan peningkatan radikal bebas di hepar tikur dan pancreas sehingga dapat menyebabkan kerusakan pancreas dan terjadilah diabetes mellitus.
5. Di dalam tubuh terdapat berbagai sistem proteksi terhadap radikal bebas yang biasa disebut anti oksidan yang bekerja mencegah terhimpunnya senyawa oksidan yang berlebihan dan mencegah reaksi rantai yang

berkelanjutan yaitu tranferin dan feritin, seruloplasmin dan albumin, vitamin E, vitamin C serta  $\beta$ -karotin.

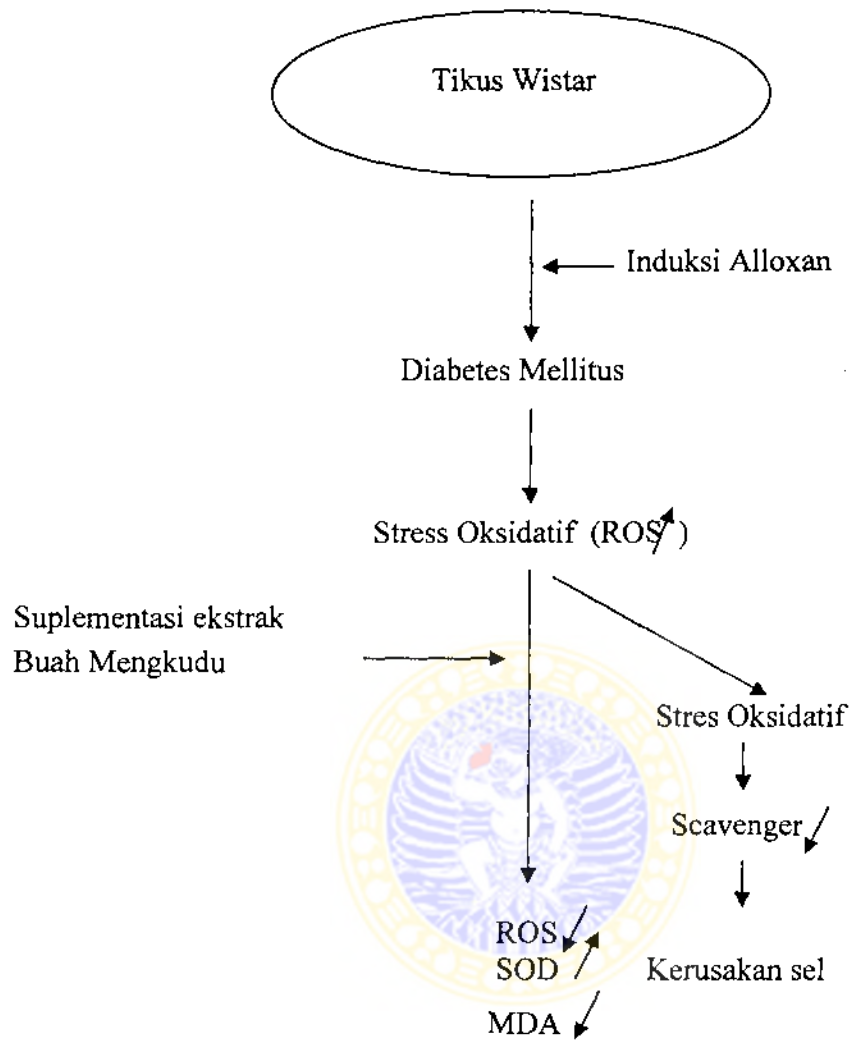
6. Ekstrak buah mengkudu diduga mengandung vitamin C,  $\beta$  carotin dan selenium yang bertindak sebagai antioksidan sehingga dapat menyembuhkan banyak macam penyakit dan salah satu khasiatnya ternyata dapat mengobati diabetes mellitus.
7. Untuk mengetahui efektifitas antioksidan ekstrak buah mengkudu dalam menghambatn reaksi oksidan dan radikal bebas dalam tubuh tikus, sebagai indicator dilakukan pemeriksaan kadar MDA dan aktifitas enzim SOD dalam hepar .

### 3.2 Hipotesis

1. Suplementasi ekstrak buah mengkudu akan meningkatkan aktifitas enzim SOD pada tubuh tikus dewasa yang mengalami diabetes mellitus yang diinduksi dengan alloxan 115 mg/KgBB secara intraperitoneal.
2. Suplementasi ekstrak buah mengkudu menurunkan kadar MDA dalam eritrosit tikus dewasa yang mengalami diabetes mellitus yang diinduksi dengan alloxan 115 mg/KgBB secara intraperitoneal.



### 3.3 Kerangka Konseptual

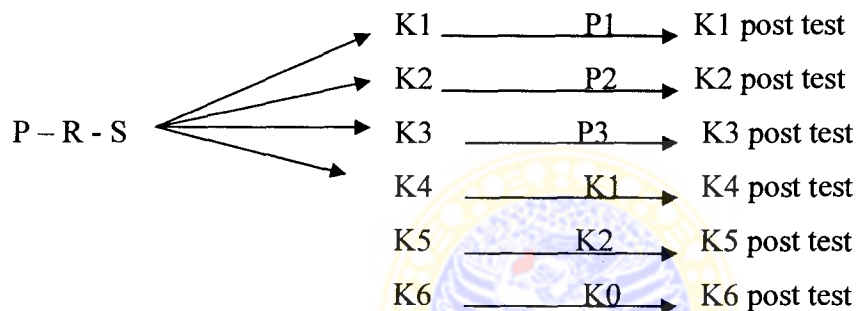


## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis Dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *extended Randomized Posttest Only Control Group Design*, yang secara skematis rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut :



Keterangan :

R = Randomisasi

K1 = Kelompok 1

K2 = Kelompok 2

K3 = Kelompok 3

K4 = Kelompok 4

K5 = Kelompok 5

K6 = Kelompok 6

P1 = perlakuan 1 (pemberian alloxan 115 mg/KgBB ip + pemberian ekstrak buah mengkudu po. 1500 mg/KgBB selama 1 minggu)

P2 = Perlakuan 2 (pemberian alloxan 115 mg/KgBB ip + pemberian ekstrak

- buah mengkudu po. 2000 mg/KgBB selama 1 minggu)
- P3 = Perlakuan 3 (pemberian alloxan 115 mg/KgBB ip + pemberian ekstrak buah mengkudu po. 2000 mg/KgBB selama 2 minggu)
- K1 = Kelompok control 1 (Pemberian alloxan 115 mg/KgBB ip. Dosis tunggal tanpa pemberian ekstrak buah mengkudu selama 1 minggu)
- K2 = Kelompok control 2 (Pemberian alloxan 115 mg/KgBB ip. Dosis tunggal tanpa pemberian ekstrak buah mengkudu selama 2 minggu)
- K0 = Kelompok control 3 (Tanpa pemberian alloxan dan ekstrak buah mengkudu)

Dipilihnya rancangan penelitian "*The Posttest – Only Control Group Design*" dengan asumsi bahwa tiap unit dalam populasi adalah homogen, artinya semua karakteristik antar unit populasi sama. Maka pengukuran awal tidak dilakukan, karena dianggap sama untuk semua kelompok yang berasal dari satu populasi.

## **4.2 POPULASI, SAMPEL, BESAR SAMPEL DAN SAMPLING**

### **1. Sampel**

Sampel dalam penelitian ini menggunakan *Rattus novergicus starin Wistar*, jenis kelamin jantan, dewasa, berumur 2.5 – 3 bulan, berat 150 –250 gram dengan kondisi sehat (Sujari, 1996), dari laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajahmada Yogyakarta.

### **2. Besar Sampel**

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka besar sample dalam penelitian ini adalah 36 ekor tikus Wistar yang dibagi menjadi 6 kelompok.

### 3. *Sampling*

Teknik *sampling* besar sampel dibagi menjadi 6 kelompok secara random sampling dengan cara undian.

## 4.3 VARIABEL PENELITIAN

### 1. Klasifikasi Variabel

#### a. Variabel Bebas (*Independent*)

- Pemberian ekstrak buah mengkudu selama 1 minggu
- Pemberian ekstrak buah mengkudu selama 2 minggu

#### b. Variabel Tergantung (*dependent*)

- Kadar SOD (*superoksida dismutase*)
- Kadar MDA (*malonaldehid*)

#### c. Variabel Kendali

- Jenis hewan coba
- Jenis kelamin hewan coba
- Umur hewan coba
- Berat badan hewan coba
- Kesehatan fisik hewan coba
- Faktor lingkungan laboratorium untuk pemeriksaan
- Dosis ekstrak buah mengkudu
- Cara Pemberian
- Waktu pemberian



## 2. Definisi Operasional Variabel

1. Pemberian ekstrak buah mengkudu selama 1 minggu adalah kelompok tikus yang dipapar ekstrak buah mengkudu peronde sebanyak 1500 mg/KgBB sehari selama 1 minggu setelah diinduksi alloxan 115 mg/KgBB dosis tunggal secara intraperitoneal
2. Pemberian ekstrak buah mengkudu selama 2 minggu adalah kelompok tikus yang dipapar ekstrak buah mengkudu peronde sebanyak 1500 mg/KgBB sehari selama 1 minggu setelah diinduksi alloxan 115 mg/KgBB dosis tunggal secara intraperitoneal
3. Kadar Malonaldehid (MDA) adalah kadar MDA dari fraksi hepar yang ditentukan dengan metode Thiobarbituric acid (TBA) dari Uchiyama dan Mihara.
4. Kadar *Superoksida dismutase* (SOD) adalah kadar SOD dari fraksi hepar yang ditentukan dengan metode dari Wong dkk.
5. Jenis hewan coba adalah *Rattus novergicus* strain Wistar dari laboratorium farmakologis Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta
6. Jenis kelamin hewan coba adalah jantan
7. Umur hewan coba adalah 2.5 – 3 bulan
8. Berat hewan coba adalah 150 – 250 gram
9. Kesehatan fisik hewan coba adalah berbadan sehat yang ditandai : bermata jernih, bulu mengkilap, gerakan aktif/lincah dan feces baik/tidak lembek (Sujari, 1996)

10. Faktor lingkungan laboratorium untuk pemeriksaan adalah selama penelitian hewan coba ditempatkan pada kandang ukuran 20x30x40 cm, tiap kandang berisi 6 ekor tikus, penyiaran cukup dan udara keluar masuk bebas.

#### **4.4 Bahan Penelitian**

##### **1. Hewan Coba**

Hewan coba adalah *Rattus novergicus strain Wistar* , jenis kelamin jantan, dewasa, berumur 2.5 – 3 bulan, berat 150 –250 gram denan kondisi sehat (Sujari, 1996), dari laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Pemakaian jenis jantan ini dimaksudkan untuk mengeliminir faktor hormonal apabila menggunakan tikus betina.

##### **2. Bahan Untuk Perlakuan**

Ekstrak mengkudu diperoleh melalui buah segar dicuci bersih dan tanpa mengupas kulit bagian luar kemudian dikeringkan sampai kadar air 10%, kemudian digiling dan disaring, selanjutnya direndam etanol 96% selama 24 jam, kemudian diperkolasi hingga perkolat tidak berwarna. Setelah itu perkolat dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Melalui tehnik ekstraksi ini diharapkan akan diperoleh komponen aktif yang hampir sama, apabila mengkudu diminum langsung seperti yang dilakukan masyarakat awam. Buah mengkudu yang digunakan adalah yang sudah masak karena diduga mengandung anti oksidan yang menurunkan radikal bebas dalam tubuh.

##### **3. Pembuatan sediaan dan dosis pemberian peroral**

Karena belum diketahui pada dosis berapa dari perasan buah mengkudu ini yang mempunyai khasiat antioksidan, maka perlu dilakukan observasi dosis. Pada

penelitian terdahulu terhadap efek analgesik dari akar morinda citrifolia linn secara i.p kadar 800 mg/kg dan 1600 mg/kg mempunyai efek analgesik yang paling baik (Younos, C, 1990, P 430 – 434), terhadap efek anti edema pada dosis 1500 mg/Kg BB mencit mempunyai efek anti edema hampir sama dengan endometasin (0.94 kali). Berdasarkan data tersebut maka dosis peroral yang akan diobservasi adalah 1500 mg/Kg BB dan 2000 mg/Kg BB.

#### **4. Bahan Untuk Pemeriksaan**

##### **a. Alat Untuk Pemeriksaan MDA**

Tabung reaksi, vortex, Ependorf, Waterbath, Transpipet dan tip, kertas saring. Whatman 42, Microsentrifuge, spektrofotometer, glass wool.

##### **b. Bahan Yang berkaitan dengan Pemeriksaan Malonal dehide (MDA)**

Larutan TRIS (hidroxymethyl-aminomethan), TCA (Trichlor Acetic Acid) 100%  
HCl 1 N, Na – Thio (NaOH-Thiobarbiturat)

##### **c. Bahan Yang Berkaitan Dengan Pemeriksaan *Superoksid Desmutase* (SOD)**

Xanthine 25 x 106, Xanthine oksidase 1 unit/ml, NBT 30 mg/ml DMF 70%, EDTA 0.05 M, Buffer Phosphat 0.05 M pH 7.4, Dimethyl formamide (DMF) 70%, Aquabidest (dd H<sub>2</sub>O), Sampel

#### **5. Pakan dan air minum**

Tikus uji maupun kontrol diberi makan pellet dan minum ad libitum

#### 4.5 Prosedur Penelitian

1. Tikus wistar dipuasakan 16 jam sebelum pengujian, air minum tetap diberikan
2. Pada hari pengujian, ditimbang bobotnya (150 – 200 gram) dan dikelompokkan secara acak.
3. Masing – masing kelompok diberi perlakuan berturut – turut dengan pemberian peroral ekstrak perasan buah mengkudu.
4. Setelah 1 minggu, 2 minggu diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan MDA dan enzim SOD

##### a. Preparasi Sediaan Hepar Terpisah

Setelah tikus dibunuh dengan pematahan batang lehernya, maka hepar diisolasi dari jaringan sekitarnya dengan mengikut sertakan system sirkulasinya yaitu arteri hepatica, vena porta dan vena hepatica. Pada arteri dan vena hepatica dipasang polietilen. Pada arteri dan vena dialirkan cairan fisiologis krebs yang telah dialiri karbogen (95% O<sub>2</sub> dan 5% CO<sub>2</sub>). Hati diambil dan dicuci dengan nM Tris, 0.15 bufer KCl (pH 7.4) . Dilakukan homogenisasi dalam cairan homogenate dengan menggunakan “*Potter Homogenizer*”, lalu dilakukan fraksinasi dengan centrifugasi secara bertahap.

##### b. Pemeriksaan MDA

Konsentrasi MDA ditentukan dengan menggunakan metode Thiobarbiturat Acid (TBA) dari Uchiyama dan Mihara. Prinsip metode ini adalah adanya pengaruh asam dan panas akan menyebabkan dekomposisi lipid peroksida untuk membentuk MDA. MDA direaksikan dengan TBA untuk membentuk perubahan warna. Perubahan warna ini diukur melalui

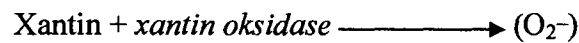
spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Cara kerjanya adalah

- 1) penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan Malonaldehide,
- 2) pembuatan kurva baku MDA dan 3) pengukuran MDA dari sampel.

### c. Pemeriksaan SOD

Penentuan kadar SOD dilakukan menurut protocol yang dilakukan oleh Wong, Dkk (1989), dasar teorinya adalah :

- ◆ Apabila xantin direaksikan dengan xantin oksidase akan terbentuk radikal bebas superoksida ( $O_2^-$ )



- ◆ Superoksida ini dapat mereduksi Nitroblue Tetrazolium (NBT) membentuk warna formazan, yang mempunyai panjang gelombang 580 nm.
- ◆ *Superoksida dismutase* (SOD) mampu menghambat superoksida untuk mereduksi NBT. Berdasarkan reaksi ini ditentukan kadar SOD, yang besarnya sesuai dengan kemampuannya menghambat reduksi NBT, dengan membuat kurva baku hambatan SOD terhadap  $O_2^-$  dalam mereduksi NBT.

5. Semua data yang diperoleh ditabulasikan dan hasil setiap kelompok dirata-rata.

## 4.6 Lokasi Dan Waktu Penelitian

### a. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

#### b. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam waktu 3 bulan

#### 4.7 Analisa Data

Perbandingan masing – masing kadar MDA dan enzim SOD pada minggu ke 1 dan 2 dinyatakan dengan statistik deskriptif dan analisis dengan menggunakan *Anova Completely Randomized Design* (Anova CRD) pada tingkat kepercayaan 95%. Dari hasil perhitungan, apabila didapatkan F Hitung lebih besar dari F table maka menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Perhitungan dilanjutkan dengan uji *Honestly Different* (HSD test) untuk mengetahui ada tidaknya efek antar pasangan kelompok perlakuan (Daniel, 1983)



**BAB V****HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA****5.1. Hasil Pengamatan****5.1.1 Penyediaan Ekastrak Buah Mengkudu**

Berat 1 buah segar *Morinda Citrifolia* adalah 95 gr dengan ukuran 4 x 4 x 8 cm. Dari buah segar 5300 gram dikeringkan menjadi 852 gram dan dihasilkan ekstrak etanol 165 gram.

Data yang didapat dari hasil penelitian berupa aktifitas enzim SOD dan MDA hepar yang dideskripsikan dan diuji dengan taraf signifikansi 5% dan diolah untuk analisis grafik. Dari rangkaian penelitian yang telah dilaksanakan, diperoleh informasi data-data sebagai berikut :

**5.2. Hasil Pengukuran Enzim SOD****5.2.1 Hasil Analisis Deskriptif**

Tabel 5.1 Hasil Analisis Deskriptif variabel enzim SOD

<b>Kel.</b>	<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Rerata</b>	<b>Simpang Baku</b>
1.	Alloxan + Mengkudu 1500 mg/kg/BB-1 minggu	9.427	0.475
2.	Alloxan + Mengkudu 2000 mg/kg/BB-1 minggu	12.664	1.540
3.	Alloxan + Mengkudu 2000 mg/kg/BB-2 minggu	11.451	0.360
4.	Kontrol 1 (Alloxan selama 1 minggu)	11.541	0.765
5.	Kontrol 2 (Alloxan selama 2 minggu)	11.306	0.947
6.	Kontrol Negatif (tanpa Alloxan 1 minggu)	11.360	0.707
	<b>TOTAL</b>	<b>11.291</b>	<b>1.268</b>

Tabel 5.1 menunjukkan rerata kadar enzim SOD terendah pada kelompok perlakuan 1 (9.427) dan rerata tertinggi pada kelompok perlakuan 2 (12.664).

dengan signifikansi 5% rerata kadar enzim SOD 11.291 pada range 10.862 sampai 11.720.

### 5.2.2 Hasil Analisis Normalitas Data

Tabel 5.2 Hasil Analisis Normalitas Distribusi (Uji Kosmolgorov-Smirnov)

Variabel Enzim SOD Fraksi Hepar

Besar Sampel	Rerata	K-S (Z)	Sig (2-Tailed)
36	129.059	0.762	0.608

Tabel 5.2 menunjukkan bahwa nilai probabilitas ( $0.762 > 0,05$ ), artinya distribusi sampel adalah normal.

### 5.2.3 Hasil Analisis Homogenitas Variance

Tabel 5.3 Hasil Analisis Homogenitas Variabel Enzim SOD Fraksi Hepar

Levene Statistic	Df1	Df2	Sig
1.911	5	30	0.122

Tabel 5.3 terlihat bahwa Levene Test hitung sebelum dilakukan transformasi adalah 2.705 dengan nilai probabilitas 0.039, yang berarti keenam varians populasi tidak normal, namun setelah dilakukan transformasi nilai probabilitas  $0.122 > 0.05$ , sehingga  $H_0$  diterima atau keenam varians populasi adalah normal.



#### 5.2.4 Hasil Analisis ANOVA

Tabel 5.4 Hasil Analisis Univariate Test Aktifitas Enzim SOD Hepar Antar

Kelompok Perlakuan

Variabel	F	P
SOD	8.342	0.000

Tabel 5.4 menunjukkan bahwa F hitung adalah 8.342 dengan probabilitas 0.000. Karena probabilitas  $<0.05$  maka  $H_0$  ditolak atau rerata kadar enzim SOD keenam kelompok memang berbeda nyata.

#### 5.2.5 Hasil Analisis LSD

Tabel 5.5 Matrik Perbandingan Ganda SOD Fraksi Hepar Antar Kelompok

Kadar SOD	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	Kontrol 1	Kontrol 2	Kontrol Negatif
Perlakuan 1	-					
Perlakuan 2	-3.2375*	-				
Perlakuan 3	-2.0240*	1.2135*	-			
Kontrol 1	-2.1137*	1.1238*	8.974E-02	-		
Kontrol 2	-1.8790*	1.3585*	0.1449	0.2347	-	
Kontrol (-)	-1.9334*	1.3041*	9.059E-02	0.1803	-5.435E-02	-

Tanda \* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok

Tabel 5.5 menunjukkan bahwa :

- Kelompok perlakuan 1 berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 2,3, kontrol 1, kontrol 2 dan kontrol negatif.
- Kelompok perlakuan 2 berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 3, kontrol 1, kontrol 2 dan kontrol negatif.
- Kelompok perlakuan 3 berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 1 dan 2, tetapi tidak berbeda dengan kelompok kontrol 1, kontrol 2 dan kontrol negatif.

- d. Kelompok kontrol 1 berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 tetapi tidak berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 3, kontrol 2 dan kontrol negatif.

### 5.3. Hasil Pengukuran MDA

#### 5.3.1 Hasil Analisis Deskriptif

Tabel 5.6 Hasil Analisis Deskriptif Variabel Enzim MDA

Kel.	Kelompok Perlakuan	Rerata	Simpang Baku
1.	Alloxan + Mengkudu 1500 mg/kg/BB-1 minggu	0.339	0.02209
2.	Alloxan + Mengkudu 2000 mg/kg/BB-1 minggu	0.337	0.04018
3.	Alloxan + Mengkudu 2000 mg/kg/BB-2 minggu	0.494	0.05899
4.	Kontrol 1 (Alloxan selama 1 minggu)	0.406	0.01408
5.	Kontrol 2 (Alloxan selama 2 minggu)	0.355	0.03462
6.	Kontrol Negatif (tanpa Alloxan 1 minggu)	0.460	0.08529
	<b>TOTAL</b>	<b>0.399</b>	<b>0.07645</b>

Tabel 5.6 menunjukkan rerata kadar enzim MDA terendah pada kelompok perlakuan 2 (0.337) dan rerata tertinggi pada kelompok perlakuan 3 (0.494).

Dengan signifikansi 5% rerata kadar enzim MDA 0.399 pada range 0.373 sampai 0.425.

#### 5.3.2 Hasil Analisis Normalitas

Tabel 5.7 Hasil Analisis Normalitas Distribusi (Uji Kosmologorov-Smirnov) variabel MDA Fraksi Hepar

Besar Sampel	Rerata	K-S (Z)	Sig (2-Tailed)
36	0.165	0.983	0.288

Tabel 5.7 menunjukkan bahwa nilai probabilitas ( $0.983$ ) $>0,05$ , artinya distribusi sampel adalah normal.

### 5.3.3 Hasil Analisis Homogenitas Variance

Tabel 5.8 Hasil Analisis Homogenitas Variabel MDA Fraksi Hepar

Levene Statistic	Df1	Df2	Sig
2.311	5	30	0.069

Tabel 5.8 terlihat bahwa Levene Test hitung sebelum dilakukan transformasi adalah 3.201 dengan nilai probabilitas 0.020, yang berarti keenam varians populasi tidak homogen, namun setelah dilakukan transformasi nilai probabilitas  $0.069 > 0.05$ , sehingga  $H_0$  diterima atau keenam varians populasi adalah homogen.

### 5.3.4 Hasil Analisis ANOVA

Tabel 5.9 Hasil Analisis Univariate Test Aktifitas Enzim MDA Hepar Antar Kelompok Perlakuan

Variabel	F	P
MDA	11.220	0.000

Tabel 5.9 menunjukkan bahwa F hitung adalah 11.220 dengan probabilitas 0.000. Karena probabilitas  $<0.05$  maka  $H_0$  ditolak atau rerata kadar enzim SOD keenam kelompok memang berbeda nyata.

## 5.3.5 Hasil Analisis LSD

Tabel 5.10 Matrik Perbandingan Ganda MDA Fraksi Hepar Antar Kelompok

Kadar SOD	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	Kontrol 1	Kontrol 2	Kontrol Negatif
Perlakuan 1	-					
Perlakuan 2	1.3883E-03	-				
Perlakuan 3	-0.15547*	-0.15686*	-			
Kontrol 1	-6.7647E-02*	-6.9035E-02	8.7825E-02*	-		
Kontrol 2	-1.6439E-02	-1.7827E-02	0.13903*	5.1208E-02	-	
Kontrol (-)	-0.12142*	-0.12281*	3.4047E-02	5.3778E-02	0.10499*	-

Tanda \* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok

Tabel 5.10 menunjukkan bahwa :

- Kelompok perlakuan 1 berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 3, kontrol 1 dan kontrol negatif, tetapi tidak berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 2, dan kelompok kontrol 2.
- Kelompok perlakuan 2 berbeda secara nyata dengan kelompok perlakuan 3, kontrol 1 dan kontrol negatif, dan tidak berbeda dengan kontrol 2.
- Kelompok perlakuan 3 berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol 1 dan kontrol 2, tetapi tidak berbeda dengan kelompok kontrol negatif.
- Kelompok kontrol 1 berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol 2 dan kontrol negatif.
- Kelompok kontrol 2 berbeda secara nyata dengan kelompok kontrol negatif.

## BAB VI

### P E M B A H A S A N

Ketika radikal bebas mengakibatkan berbagai penyakit dan memperpendek kehidupan, maka hal ini menjadi alasan bahwa perlu tahu tidak hanya dari mana berasal tetapi juga bagaimana menghindarinya, atau minimal membatasi dari paparannya. Sayangnya, radikal bebas ada dimana-mana; pada makanan yang kita makan, air yang kita minum, udara yang kita hirup, bahkan tubuh kita menghasilkan radikal bebas.

Beberapa sumber radikal bebas antara lain; diet makanan tinggi lemak, trans-fat, bahan kimia (kloronasi air), pestisida, radiasi ionisasi. Konsumsi lebih dari 10% kalori dari lemak, secara dramatis akan meningkatkan radikal bebas.

Sejarah radikal bebas dalam biologi dan kedokteran dimulai dengan penemuan oleh Mc Cord, Keele dan Fridovich pada tahun 1969 yaitu *superoxide desmutase* (SOD). Suatu enzim yang bertanggung jawab merusak anion superoksida radikal hasil reduksi univalent oksigen.

Produksi yang berlebihan radikal bebas diketahui bertanggungjawab terhadap kerusakan jaringan (*tissue injuries*) dan berbagai penyakit pada manusia seperti diabetes millitus, pancreatitis, stroke, *congestive heart failure*, katarak, asma dan sebagainya. Hiperglikemia akut (DM) telah diidentifikasi akibat radikal bebas dan terjadi stress oksidatif. Rangkaian kejadian kompleks terjadi pada kerja insulin (membran plasma dan metabolisme glukosa) terganggu, sekresi insulin berkurang (Careilo, 2000). Tubuh kita mempunyai sistem pertahanan khusus

untuk menetralkan radikal bebas: sistem antioksidan nutrisi dan sistem enzim antioksidan.

### 6.1 Aktifitas Enzim SOD

Jaringan mengandung beberapa komponen antioksidan dan antiradikal bebas yang merupakan sistem pertahanan fisiologi terhadap stress oksidatif. Komponen antioksidan tersebut antara lain antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Mekanisme kerja antioksidan enzimatis adalah merusak oksidan dan radikal bebas secara katalitik (enzim intra seluler), menghambat reaksi rantai radikal bebas dan menghasilkan produk yang menghambat auto-oksidasi (Yueniwati, 2000). Contoh antioksidan enzimatis antara lain SOD, katalase (CAT), glutathion peroksidase (Halliwell, Gutteridge, 1999, Suryohudoyo, 2000). Superoxide merupakan oksigen reaktif radikal yang pertama yang dihasilkan oleh reduksi satu elektron molekul oksigen pada proses metabolisme dan sumber radikal yang lain. Anion superoxide diketahui menidakaktifkan katalase, yang terlibat dalam deoksifikasi hydrogen peroksida. Sehingga sangat penting menguji kemampuan *scavenging* antioksidan. Bahkan akhir-akhir ini, hipoxanthine-xanthine oxidase (HPX-XOD) digunakan secara luas sebagai sumber superoxide untuk mengevaluasi kemampuan *scavenging* antioksidan dengan menggunakan *electron spin resonance* (ESR) (Wenwei, LIU, 2001). SOD dipandang sebagai salah satu enzim yang paling penting sebagai antioksidan enzimatis dalam sistem pertahanan tubuh. SOD membersihkan anion superoxide untuk membentuk hydrogen peroksida, juga mengurangi efek toksik yang disebabkan oleh radikal. Wohaieb et al (1987) berpendapat bahwa oksigen reaktif radikal bebas dapat

menginaktifkan dan mengurangi aktifitas SOD dan katalase hepar. Pemeriksaan SOD pada dasarnya adalah melihat kemampuan superoksida desmutase menghambat superoksida untuk mereduksi Nitroblue Tetrazolin (NBT) pada tikus yang diinduksi alloxan 115 ml/KgBB dosis tunggal secara intra peritoneal. Sebagaimana diuraikan sebelumnya bahwa ketika alloxan diinjeksikan pada tikus akan terakumulasi pada pulau Langerhans dan hati, hati akan mengandung aktifitas SOD, katalase yang tinggi dan *glutation peroksidase*.

Tabel 5.1 merupakan jawaban dari pernyataan apakah ekstrak buah mengkudu memainkan peran yang krusial dalam *superoksida scavenging*. Jawaban dapat dibaca dengan mudah pada tabel tersebut bahwa aktifitas scavenging tidak selalu meningkat dengan pemberian ekstrak buah mengkudu. Hal ini dibuktikan bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB selama satu minggu menunjukkan rerata enzim SOD yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol 1, pemberian ekstrak mengkudu dosis 2000 mg/KgBB selama dua minggu juga menunjukkan rerata enzim SOD yang lebih tinggi dibandingkan kontrol 2. sebaliknya pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 1500 mg/KgBB memperlihatkan rerata enzim SOD yang lebih rendah dibandingkan kontrol 1 bahkan kontrol negatif. Hal ini memberi gambaran bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB meningkatkan aktifitas enzim SOD. Sebaliknya pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 1500 mg/KgBB tidak meningkatkan aktifitas enzim SOD pada tikus putih. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan pada pemberian dosis 1500 mg/KgBB menyebabkan induksi metabolismenya sendiri (*self inducer*) dan dapat menyebabkan desensitifitas pada

reseptor dimana jumlah obat yang mencapai reseptor tidak berkurang tetapi karena sensitifitas reseptornya menurun maka akan terjadi penurunan respon.

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rerata enzim SOD ( $p < 0.05$ ). Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, analisis dilanjutkan dengan LSD. Dari analisa LSD, dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara :

- a. Kelompok perlakuan negatif dengan kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2
- b. Kelompok kontrol 1 dengan kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2
- c. Kelompok kontrol 2 dengan kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2
- d. Kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2 dan perlakuan 3
- e. Kelompok perlakuan 2 mempunyai perbedaan antar kelompok yang paling besar dan nilai rerata SOD yang paling tinggi diantara kelompok lain

Hasil ini memberi gambaran bahwa pemberian ekstrak morinda citriolia dosis 2000 mg/KgBB selama seminggu mempunyai efek peningkatan SOD yang paling baik (rerata kadar SOD tertinggi) diantara dua kelompok lain. Penelitian sebelumnya yang dilakukan YY Soon (2002) juga membuktikan bahwa pemberian ekstrak akar mengkudu secara signifikan meningkatkan aktifitas SOD, katalase dan GSH hepar pada tikus yang diinduksi dengan STZ. Beberapa peneliti melaporkan inhibisi *xanthin oksidase* dengan beberapa flavonoid banyak didapatkan dari berbagai tanaman.

Telah dilaporkan bahwa perasan buah mengkudu berdasarkan skrining fitokimia mengandung glikosida anthrakinon, glikosida saponin dan flavonoid (Gemparing bayu Wiyoto, 1999), alkaloid xeronine (Ralph Heinicke, 1985) alkaloid triterpenoidan, damnachantal (Hiramatsu, 1993), tripenoid



(Wijayakusumah et al, 1996) kandungan bahan aktif inilah yang dapat menyebabkan efek anti oksidan dan radikal bebas, tetapi seberapa optimal efek anti oksidan dan radikal bebas tersebut digunakan secara praktis dibandingkan dengan antioksidan sintetis seperti vitamin C, E dan seruplasmin, dan lainnya belum diketahui secara jelas. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengisolasi dari masing-masing bahan aktif yang terkandung dalam buah mengkudu dan menguji kasiat antioksidan dan radikal bebas bahan aktif tersebut dan dibandingkan dengan antioksidan sintetis.

## 6.2 Aktifitas Malonaldehyde (MDA)

Pada penelitian ini diperiksa kadar MDA hepar sebagai indikator aktifitas radikal bebas dan oksidan. Pengukuran kadar MDA merupakan cara pengukuran aktifitas radikal bebas dan oksidan secara tidak langsung, sebab yang diukur adalah produk dan reaksi radikal bebas dan oksidan, bukan radikal bebas secara langsung (Yueniwati, 2000). MDA terbentuk dari peroksidasi lipid (lipid peroxidation) pada membran sel, yaitu reaksi radikal hidroksil dengan polyunsaturated fatty acid (PUFA) (Suryohudoyo, 2000). Reaksi tersebut terjadi secara berantai dan akibat akhir reaksi rantai tersebut akan terbentuk asam peroksida ( $H_2O_2$ ).  $H_2O_2$  tersebut dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel dan berbeda panjang rantainya antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk (Yueniwati, 2000).

Prinsip pemeriksaan MDA adalah adanya pengaruh asam dan panas akan menyebabkan dekomposisi lipid peroksida untuk membentuk MDA. MDA

direaksikan dengan TBA untuk membentuk perubahan warna. Secara teori alloxan bekerja langsung pada sel beta pancreas, merangsang terbentuknya  $H_2O_2$  dan merusak lisosom sel, menyebabkan degenerasi dan resorpsi sel pancreas sehingga dapat terjadi defisiensi insulin. Pada diabetes, peningkatan aktifitas hipoinsulinemia pada enzim, *fatty acyl Coenzyme A oxidase*, yang mana mengawali beta-oksidasi asam lemak menyebabkan peroksidasi lipid mengganggu fungsi membran dengan menurunkan fluiditas dan perubahan aktifitas ikatan membran-enzim dan reseptor. Produk ini (radikal lipid dan peroksidasi lipid) berbahaya terhadap sel tubuh dan disertai dengan atherosklerosis dan kerusakan otak.

Pada penelitian ini, nilai MDA hepar secara signifikan lebih rendah pada kelompok yang diberikan ekstrak buah mengkudu dibandingkan kelompok lain. Hasil penelitian (tabel 5.6) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 1500 mg/KgBB selama satu minggu menunjukkan rerata enzim MDA yang lebih rendah (0.339) dibandingkan kelompok kontrol 1 (0.406), begitu juga pemberian ekstrak mengkudu dosis 2000 mg/KgBB selama satu minggu juga menunjukkan rerata enzim MDA yang lebih rendah (0.337) dibandingkan dengan kontrol 2 (0.355).

Sebaliknya pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB memperlihatkan rerata enzim MDA yang lebih tinggi (0.494) dibandingkan kontrol 2 bahkan kontrol negatif. Hal ini memberi gambaran bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 1500 mg/KgBB dan 2000 mg/KgBB selama satu minggu menurunkan aktifitas enzim MDA. Sebaliknya pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB selama 2 minggu tidak menurunkan aktifitas

enzim MDA pada tikus putih. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan pada pemberian dosis 2000 mg/KgBB selama dua minggu menyebabkan induksi metabolismenya sendiri (*self inducer*) dan dapat menyebabkan desensitifitas pada reseptor dimana jumlah obat yang mencapai reseptor tidak berkurang tetapi karena sensitifitas reseptornya menurun maka akan terjadi penurunan respon.

Kemungkinan lain penyebab efek penurunan aktifitas enzim MDA pada pemberian ekstrak buah mengkudu pada dosis 2000 mg/KgBB selama dua minggu yang tidak linier dengan pemberian dosis yang sama selama satu minggu adalah pengukuran komponen oksidasi biologi. Sebagaimana diketahui bahwa ada dua kategori antioksidan dalam serum yaitu antioksidan pencegah dan antioksidan pemutus rantai. Antioksidan pencegah, mencegah pembentukan radikal hidroksil. Untuk membentuk radikal hidroksil diperlukan tiga komponen yaitu Fe atau Cu,  $H_2O_2$  dan  $O_2$ , dan agar reaksi fenton tak terjadi, harus dicegah keberadaan ion  $Fe^{++}$  atau  $Cu^+$  bebas. Untuk itu berperan penting transferin atau feritin untuk Fe dan seruplasmin untuk Cu. Penimbunan  $O_2^-$  dicegah oleh enzim superoksida dismutase. Sedangkan antioksidan pemutus rantai menghambat proses oksidasi dan membentuk produk stabil, sehingga berperan dalam membran sel untuk mencegah peroksidasi lipid. Pengakuan komponen oksidasi akibat radikal bebas ada beberapa indikator antara lain (Tjokropawiro, 2000) :

1. Peroksidasi lipid yang meliputi : penurunan PUFA dalam plasma  $H_2O_2$  dalam plasma, aldehide dalam plasma (thio barbituric acid reactant, MDA, 4 hydroxynonenal), hexan dan pentan dalam udara ekspirasi, oksidasi kolesterol dalam plasma serta LDL teroksidasi dalam plasma.

2. Oksidasi protein yang meliputi : penurunan thiol pada protein plasma, protein karbonil dalam plasma, formyl kyurenine dalam IgG, Ortho tyrosin dalam protein plasma.
3. Oksidasi DNA yang meliputi : 8-hydrxy deoxy guanosine, 5-hydroxymethyl uracil dalam urine, MDA guanin *adduct* dalam urine dan autoantibodi melawan DNA teroksidasi.
4. *Dynamic loading test of oxidation*, oksidasi salicilat ke dalam 3-dihydroxyl benzoat.
5. Oksidasi Scavenger yang meliputi : penurunan/total glutation, tocopherylquinone/tocopherol, penurunan ascorbat, tocopherol atau caroten dalam plasma.
6. Total antioxidant capacity of plasma or RBC

Dari ke enam indikator tersebut penulis menggunakan SOD untuk melihat pencegahan terhadap superoksid dan MDA untuk melihat peroksidasi lipid. Telah dilaporkan bahwa pada penelitian sebelumnya buah mengkudu berkhasiat sebagai antiinflamasi, analgetika, anti hipertensi, efek imunomodulator, anti kanker dan bahkan sebagai anti aging ataupun antioksidan. Bahkan berdasarkan penelitian klinik dari pemakaian ekstrak buah mengkudu lebih tepat digunakan sebagai food supplement daripada sebagai obat dan lebih bermanfaat untuk tujuan pencegahan daripada sebagai pengobatan. Namun penelitian khasiat antioksidan masih sedikit dilakukan. Sebagaimana diketahui bahwa oksidan kuat akan dihasilkan selama proses metabolisme dalam sel darah maupun sebagian besar sel tubuh lainnya. Oksidan kuat tersebut adalah superoksida, hydrogen peroksida radikal peroksil

dan radikal hidroksil. Radikal hidroksil merupakan molekul yang reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid serta molekul lainnya untuk mengubah strukturnya serta menimbulkan kerusakan jaringan. Sehingga perlu dipertegas titik tangkap pemberian ekstrak buah mengkudu sebagai antioksidan, dengan menggunakan metoda pengukuran yang lain.

Hasil analisa ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna  $p < 0.05$  pada rerata nilai Malonal Dehid (MDA) diantara berbagai perlakuan pada tikus putih. Analisis lebih lanjut dilakukan dengan LSD test, dari analisa LSD dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara :

- a. Kelompok perlakuan negatif dengan kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 dan kelompok kontrol 2.
- b. Kelompok kontrol 1 dengan kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3.
- c. Kelompok kontrol 2 dengan kelompok perlakuan 3.
- d. Kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 3, kontrol 1 dan kontrol negatif.
- e. Kelompok perlakuan 2 dengan kontrol 1, kontrol negatif dan perlakuan 3.
- f. Kelompok perlakuan 2 mempunyai rerata kadar MDA yang paling kecil diantara kelompok lain.

Hal ini memberikan suatu gambaran dimana pemberian ekstrak morinda *citrifolia* 2000 mg/KgBB selama seminggu mempunyai efek menghambat peningkatan MDA yang paling baik dibandingkan dengan pemberian ekstrak morinda dosis 1500 mg/KgBB selama seminggu.

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian efek antioksidan dari ekstrak buah mengkudu dengan induksi pemberian alloxan 115 mg/KgBB pada tikus putih, dapat disimpulkan :

1. Pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB dapat meningkatkan aktifitas enzim SOD pada tikus putih yang mengalami MDA yang diinduksi alloxan.
2. Pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB selama satu minggu mempunyai efek meningkatkan aktifitas enzim SOD yang lebih baik dibandingkan dosis yang sama selama dua minggu pada tikus putih yang mengalami MDA yang diinduksi alloxan.
3. Pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 1500 mg/KgBB tidak meningkatkan aktifitas enzim SOD pada tikus putih yang mengalami MDA yang diinduksi alloxan.
4. Pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 1500 dan 2000 mg/KgBB dapat menghambat aktifitas enzim MDA pada tikus putih yang mengalami MDA yang diinduksi alloxan.
5. Pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB selama satu minggu mempunyai efek menghambat enzim MDA yang lebih baik dibandingkan pemberian dosis 1500 mg/KgBB selama satu minggu pada tikus putih yang diinduksi alloxan.

6. Pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 2000 mg/KgBB selama dua minggu tidak menurunkan enzim MDA pada tikus putih yang diinduksi alloxan.

## 7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian efek antioksidan dari ekstrak buah mengkudu yang meliputi pemeriksaan aktifitas enzim SOD dan MDA, maka hal yang dapat disarankan adalah :

1. Melakukan uji antioksidan dengan indikator pengukuran oksidasi biologi yang lain.
2. Melakukan uji antioksidan pada pemaparan radikal bebas dan oksidan akut.
3. Mencari kandungan kimia mana dalam ekstrak buah mengkudu yang berkhasiat sebagai antioksidan.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh ekstrak buah mengkudu terhadap kadar glutathion tereduksi (GSH) dan aktifitas *glutathion peroksidase* (GSHPx) pada kasus stress oksidatif karena GSH merupakan salah satu senyawa penting peredam radikal hidroksil yang sangat berbahaya dan GSHPx merupakan salah satu enzim yang penting meredam radikal hidroksil.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Cochrane CG, 1991. Celluler Injury by Oxidants. Am J Med 91 (Sopl 3 C): 3C – 23 S.
- Correria MA, 1998, Drug Biotransformation In Basic and Clinical Pharmacology, 7 th, edited by Bertram G Katzung, Prentice hall International Inc., USA 50-61
- Correillo A, 2000, Oxidative Stress and Glycemic Regulation Metabolism Clinical and Experimental. 27-49
- Daniel, W.W, 1983. Biostatistics: A Foundation For Analysis in the Health Sciences. John Wiley 5 Sons Inc, Canada: pp 224 – 237.
- Esmerino L, Ranali J, Rodrigus L, 1998, Blood Glucose determination in Normal and Alloxan Diabetic Rats After administration Local Anesthetic Containing Vasoconstrictors. Brazil Faculdade de odontologia de Piracicaba, Unicamp, Departamento de Farmacologia, Braz Dent J (1998)9(1):33-37
- Gemparing Bayu W., 1999. Efek Anti Inflamasi dari perasan buah Morinda Citrifolia Linn secara peroral pada tikus putih dan mencit. Skripsi, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya.
- Ghost, M.N, 1971. Fundamental of Experimental Pharmacology. Scientific Book Agency, Calcuta, hal: 227.
- Gutteridge JMC and Halliwell B, 1990, The Measurement and Mechanism of Lipid Peroxidation in Biological System, TIBs, 129-135.
- Gutteridge JMC and Halliwell B, 1999, Free radical In Medicine, 3<sup>rd</sup>, Oxford University Press, 105-124 , 784 - 799.
- Harjanto, 2002, Permasalahan pemeriksaan senyawa Radikal di dalam Tubuh, makalah Seminar IAIFI Cabang Surabaya.



- Higgins JE and Klimbaun AP, 1985. Determining Sample Size in Introduction to Randomized Clinical Trials. Family Health International, USA: P 24-25.
- Himawat, Ekarina Paza, 1996, Antioksidan dan Radikal Bebas Biologi, Buku Abstrak Konggres Ilmiah XI Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, 171-173
- Hirazumi A, Furusawa E. 1999. An imunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. *Phitother Res.* 1999. August: 13(5). 380-387.
- Hutagalung James S, 2001. Makalah Seminar pengembangan produk alami: Pemanfaatan Mengkudu. Surabaya.
- Murray K et al, 1999. *Harper's Biochemistry and Metabolism*. Elsevier Science Publishing, Company, Inc : P 167 – 177, 201 –214.
- Mueller, et. al, 2000. *Noni juice (morinda citrifolia): hidden potential for hiperkalemia ?*: *Am J Kidney Dis* 2000 Feb; 35(2): 310-312 (Abstract).
- Ramadani RB, Sri Bagus S, 2001, Efek Antidiabetics Dari Ekstrak Buah Menghudu (*Morinda Citrifolia*) pada Tikus Yang Diinduksi dengan Alloxan, Lembaga Penelitian Unair, Suabaya.
- Suprpto Maat, 2001. Makalah Seminar pengembangan produk alami: potensi dan pemanfaatan Mengkudu. Surabaya.
- Purnomo Suryohudoyo, 1993. Oksidan, Anti oksidan dan Radikal Bebas, Makalah simposium Oksidan dan Anti Oksidan. Surabaya.
- \_\_\_\_\_, 2000. Ilmu Kedokteran Molekuler. CV Agung Seto, Jakarta : 31-47.
- Santosa Singgih, 2001, SPSS Mengolah Data Statistik Secara Profesional, PT Gramedia, Jakarta; 192-216
- Sujari, 1996. Tikus Wistar sebagai Hewan Coba untuk penelitian dengan Toksoid Tetanus. *Majalah Kedokteran Unibraw*, XII (3), Malang.

Siregar P, 1992. Metabolit Oksigen Radikal bebas dan Kerusakan Jaringan. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara Medan, cermin Dubisa Kedokteran no 80: 112 – 115.

Younos, C, et. Al, 1990. *Analgesic and Behavioural Effect of Morinda Citrifolia* Linn. *Planta Medica* 56: pp. 430-434.

Zainudin M, 2000. Metodologi Penelitian. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.



## Lampiran 1

## Lampiran 1

Penentuan jumlah sample minimal berdasarkan rumus Higgins & Klinbaum, 1985 sebagai berikut :

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot Sc^2}{(Xc - Xt)^2}$$

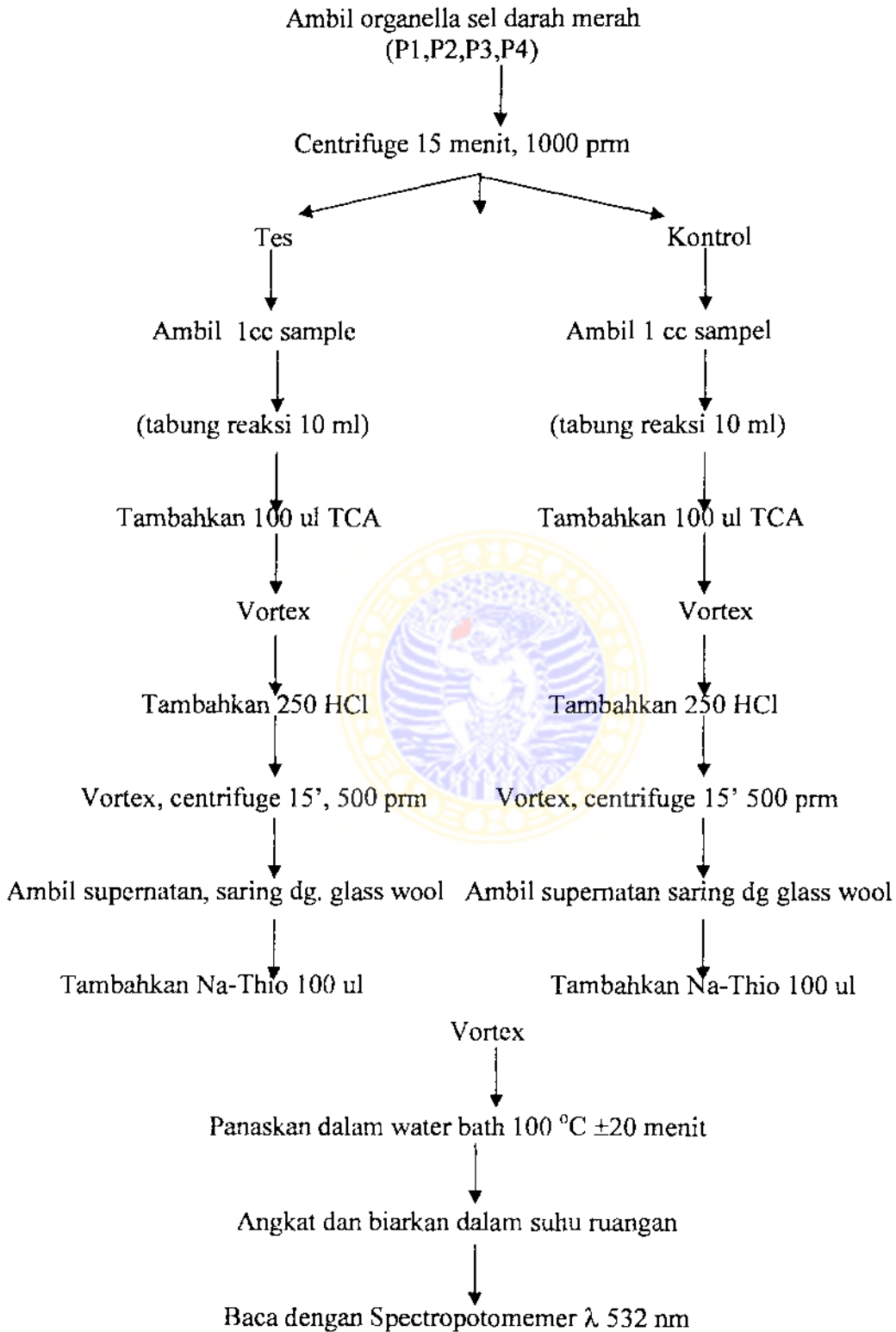
dimana :

- n = besarnya sample
- Xt = nipura kelompok sample
- Xc = nipura kelompok kontrol
- Sc = simpang baku kelompok kontrol
- f = proporsi yang gagal (droup out )
- Z $\alpha$  = 1.96 (  $\alpha$  = 0.05 )
- Z $\beta$  = 1.28 (  $\beta$  = 0.10 )

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Vilard, 1998 diperoleh data sebagai berikut :

- Xc ( nipura kelompok kontrol ) = 1.39
- Sc (simpang baku kelompok kontrol ) = 0.05
- Xt (nipura kelompok dengan buah mengkudu) = 1.49

Besar sample (n) diperoleh bila f = 0 (tanpa drop out) = 5.2466, dibulatkan menjadi 6 ekor tikus perkelompok. Jadi besar sample seluruhnya 36 ekor tikus.

**Lampiran 2****PROSEDUR PEMERIKSAAN MDA (Uchiyama & Mihara, 1978 )**

**Lampiran 3****PROSEDUR PEMERIKSAAN SOD (Wong dkk, 1989)**

- a. Membuat kurva baku hambatan SOD terhadap NBT oleh superoksida. Selanjutnya kurva baku ini digunakan untuk menentukan kadar SOD dari sampel (fraksi sel hepar)
- b. Preparasi organella sel hepar (P1,P2,P3,P4)
- c. Pengukuran SOD organella sel hepar
- d. Ambil tabung reaksi sebanyak 3 buah, kemudian diisi dengan bahan-bahan sehingga seperti dibawah ini :

	Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3
EDTA	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l
Buffer Fosfat	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	2970 $\mu$ l	1770 $\mu$ l	1760 $\mu$ l
Xanthine	-	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l
Xanthine Oxidase	-	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l
NBT	-	-	10 $\mu$ l
Sampel	-	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l

Kemudian masing – masing tersebut dipanaskan 30° C selama 10 menit. Setelah didiamkan selama 30 menit, kemudian kadar SOD dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm.

**Lampiran 4****KOMPOSISI PAKAN TIKUS**

1. Protein	maksimal	21- 23%
2. Lemak	minimal	5.0%
3. Serat	minimal	5.0%
4. Kadar Air	maksimal	13.0%
5. Abu	maksimal	7%
6. Kalsium	minimal	0.9%
7. Fosfat	minimal	0.6%

Sumber : PT Charoen Pokphand Indonesia



**Lampiran 5****Daftar : Berat Badan Tikus (dalam gram)**

No	Kandang	Identitas	BB Awal (gram)
1.	1 (satu) Kontrol Negatif	Kepala	225
2.		Punggung	185
3.		Ekor	210
4.		Kaki Depan Kanan	200
5.		Kaki Belakang Kanan	260
6.		Kaki Depan Kiri	195
7.	2 (dua) Kontrol 1	Kepala	230
8.		Punggung	230
9.		Ekor	255
10.		Kaki Depan Kanan	235
11.		Kaki Belakang Kanan	217
12.		Kaki Depan Kiri	205
13.	3 (tiga) Kontrol 2	Kepala	230
14.		Punggung	215
15.		Ekor	180
16.		Kaki Depan Kanan	250
17.		Kaki Belakang Kanan	205
18.		Kaki Depan Kiri	205
19.	4 (empat) Perlakuan 1	Kepala	255
20.		Punggung	195
21.		Ekor	240
22.		Kaki Depan Kanan	235
23.		Kaki Belakang Kanan	235
24.		Kaki Depan Kiri	215
25.	5 (lima) Perlakuan 2	Kepala	205
26.		Punggung	205
27.		Ekor	205
28.		Kaki Depan Kanan	205
29.		Kaki Belakang Kanan	205
30.		Kaki Depan Kiri	245
31.	6 (enam) Perlakuan 3	Kepala	245
32.		Punggung	230
33.		Ekor	225
34.		Kaki Depan Kanan	210
35.		Kaki Belakang Kanan	225
36.		Kaki Depan Kiri	195

**Lampiran 6****Daftar : Dosis Pemberian Perlakuan Hewan coba Selama Penelitian**

No	Kandang	Identitas	BB (gram)	Dosis Mengkudu (mg)	Dosis Alloxan Intra Pretonial (mg)
1.	1 (satu) Perlakuan 1	Kepala	225	337.5	29
2.		Punggung	185	277.5	21
3.		Ekor	210	315	24
4.		Kaki Depan Kanan	200	300	23
5.		Kaki Belakang Kanan	260	390	30
6.		Kaki Depan Kiri	195	292,5	23
7.	2 (dua) Perlakuan 2	Kepala	230	460	27
8.		Punggung	230	460	27
9.		Ekor	255	510	29
10.		Kaki Depan Kanan	235	470	27
11.		Kaki Belakang Kanan	217	434	25
12.		Kaki Depan Kiri	205	410	24
13.	3 (tiga) Perlakuan 3	Kepala	255	510	29
14.		Punggung	195	390	23
15.		Ekor	240	480	28
16.		Kaki Depan Kanan	235	470	27
17.		Kaki Belakang Kanan	235	470	27
18.		Kaki Depan Kiri	215	430	25
19.	4 (empat) Kontrol 1	Kepala	205	-	24
20.		Punggung	205	-	24
21.		Ekor	205	-	24
22.		Kaki Depan Kanan	205	-	24
23.		Kaki Belakang Kanan	205	-	24
24.		Kaki Depan Kiri	245	-	28
25.	5 (lima) Kontrol 2	Kepala	245	-	28
26.		Punggung	230	-	27
27.		Ekor	225	-	26
28.		Kaki Depan Kanan	210	-	24
29.		Kaki Belakang Kanan	225	-	26
30.		Kaki Depan Kiri	195	-	23
31.	6 (enam) Kontrol Negatif	Kepala	245	-	-
32.		Punggung	230	-	-
33.		Ekor	225	-	-
34.		Kaki Depan Kanan	310	-	-
35.		Kaki Belakang Kanan	225	-	-
36.		Kaki Depan Kiri	325	-	-



## Lampiran 7

Hasil Pemeriksaan SOD dan MDA Hewan Coba  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS KEDOKTERAN

LABORATORIUM SENTRAL BIOMEDIK

Jl Veteran Malang 65145, Telp (0341) 569117, Fax (0341) 564755

Bahan sample : Jaringan Hepar Tikus

DATA HASIL PERHITUNGAN MDA/SOD				
kelompok	Konsentrasi MDA (ug/mL)		Unit Aktivitas SOD (u/mL)	
	Absorbansi	Konsentrasi	Absorbansi	Konsentrasi
1	0.019	0.121	0.184	84.638
1	0.021	0.129	0.17	78.132
1	0.012	0.091	0.186	85.568
1	0.015	0.104	0.188	86.497
1	0.02	0.125	0.209	96.257
1	0.019	0.121	0.224	103.228
2	0.012	0.091	0.204	185.854
2	0.015	0.104	0.171	155.648
2	0.031	0.171	0.249	227.044
2	0.019	0.121	0.155	141.003
2	0.014	0.1	0.123	111.712
2	0.015	0.104	0.168	152.902
4	0.058	0.284	0.19	124.518
4	0.071	0.339	0.202	132.438
4	0.042	0.217	0.203	133.098
4	0.052	0.259	0.204	133.758
4	0.032	0.175	0.219	143.657
4	0.04	0.209	0.183	119.898
5	0.033	0.179	0.151	111.061
5	0.03	0.167	0.219	161.469
5	0.032	0.175	0.178	131.076
5	0.03	0.167	0.192	141.454
5	0.027	0.154	0.187	137.748
5	0.026	0.15	0.162	119.215
6	0.018	0.117	0.188	147.362
6	0.024	0.142	0.173	135.535
6	0.013	0.096	0.165	129.227
6	0.021	0.129	0.164	128.438
6	0.017	0.112	0.115	89.802
6	0.03	0.167	0.18	141.054
7	0.016	0.108	0.151	113.89
7	0.071	0.339	0.185	138.731
7	0.042	0.217	0.194	146.571
7	0.052	0.259	0.164	123.77
7	0.032	0.175	0.19	143.531
7	0.04	0.209	0.145	109.33

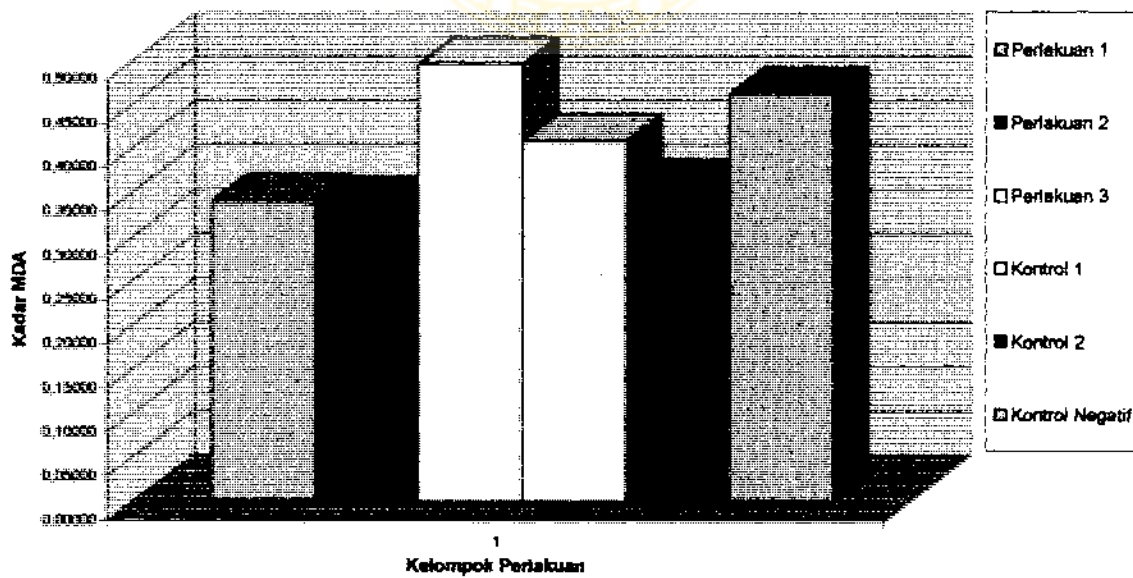
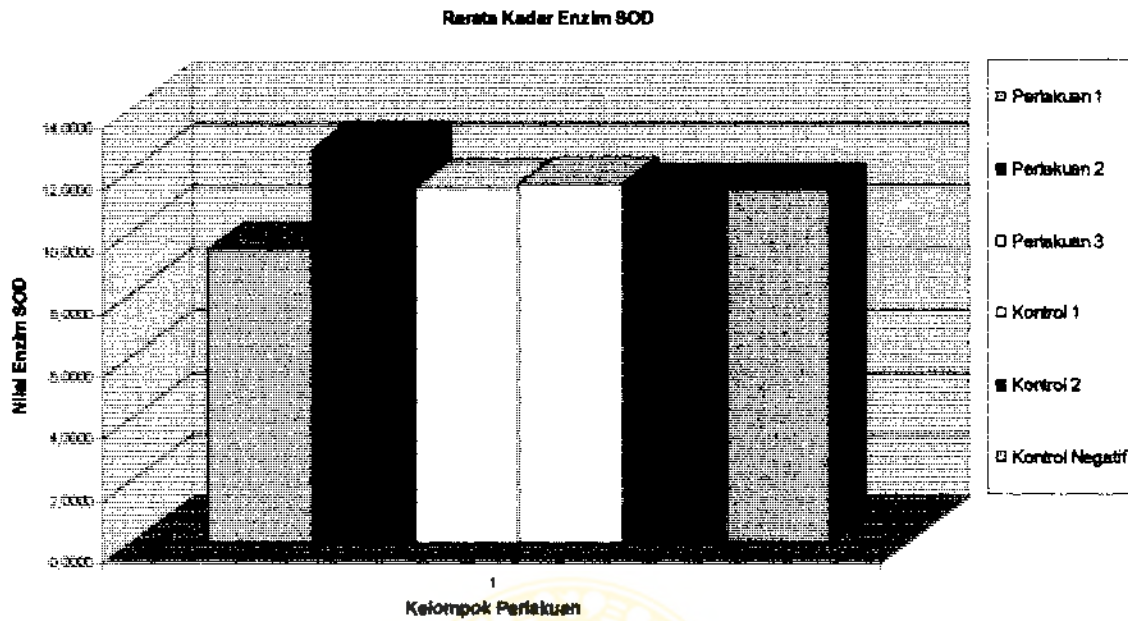
Malang, 15 Juni 2003

Penanggung Jawab Harian

(dr. Luki Enggar Fitri, Mkes.)

**Lampiran 8**

**Diagram Rerata kadar SOD dan MDA Hewan Coba**



## Lampiran 9

## Hasil Analisis Normalitas Data, Homogenitas Varians, Annova dan LSD

## One-Sample Kolmogorov-Smimov Test

		kadar malonaldehid	kadar superoksida dismutase
N		36	36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.16464	129.05861
	Std. Deviation	6.6018E-02	29.26256
Most Extreme Differences	Absolute	.164	.127
	Positive	.164	.127
	Negative	-.132	-.075
Kolmogorov-Smimov Z		.983	.762
Asymp. Sig. (2-tailed)		.288	.608

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## Oneway

## Test of Homogeneity of Variances

kadar malonaldehid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.201	5	30	.020

## ANOVA

kadar malonaldehid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.564E-02	5	1.913E-02	10.085	.000
Within Groups	5.690E-02	30	1.897E-03		
Total	.153	35			

## Oneway

### Descriptives

akar mda

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
perlakuan 1	6	.33876	2.2097E-02	9,02E-03	.31557	.36195
perlakuan 2	6	.33737	4.0184E-02	1,64E-02	.29520	.37954
perlakuan 3	6	.49423	5.8989E-02	2,41E-02	.43233	.55614
kontrol 1	6	.40641	1.4078E-02	5,75E-03	.39163	.42118
kontrol 2	6	.35520	3.4622E-02	1,41E-02	.31887	.39153
kontrol negatif	6	.46019	8.5288E-02	3,48E-02	.37068	.54969
Total	36	.39869	7.6447E-02	1,27E-02	.37283	.42456

### Test of Homogeneity of Variances

akar mda

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.311	5	30	.069

### ANOVA

akar mda

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.133	5	2.665E-02	11.220	.000
Within Groups	7.127E-02	30	2.376E-03		
Total	.205	35			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: akar mda

LSD

(I) klp perlakuan	(J) klp perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
perlakuan 1	perlakuan 2	1.3883E-03	2,81E-02	.961	-5,6E-02	5,8858E-02
	perlakuan 3	-.15547*	2,81E-02	.000	-.21294	-9,800E-02
	kontrol 1	-6,765E-02*	2,81E-02	.023	-.12512	-1,018E-02
	kontrol 2	-1,644E-02	2,81E-02	.563	-7,4E-02	4,1031E-02
	kontrol negatif	-.12142*	2,81E-02	.000	-.17889	-6,395E-02
perlakuan 2	perlakuan 1	-1,388E-03	2,81E-02	.961	-5,9E-02	5,6082E-02
	perlakuan 3	-.15686*	2,81E-02	.000	-.21433	-9,939E-02
	kontrol 1	-6,904E-02*	2,81E-02	.020	-.12651	-1,157E-02
	kontrol 2	-1,783E-02	2,81E-02	.531	-7,5E-02	3,9643E-02
	kontrol negatif	-.12281*	2,81E-02	.000	-.18028	-6,534E-02
perlakuan 3	perlakuan 1	.15547*	2,81E-02	.000	9,80E-02	.21294
	perlakuan 2	.15686*	2,81E-02	.000	9,94E-02	.21433
	kontrol 1	8.7825E-02*	2,81E-02	.004	3,04E-02	.14529
	kontrol 2	.13903*	2,81E-02	.000	8,16E-02	.19650
	kontrol negatif	3.4047E-02	2,81E-02	.236	-2,3E-02	9.1517E-02
kontrol 1	perlakuan 1	6.7647E-02*	2,81E-02	.023	1,02E-02	.12512
	perlakuan 2	6.9035E-02*	2,81E-02	.020	1,16E-02	.12651
	perlakuan 3	-8,782E-02*	2,81E-02	.004	-.14529	-3,035E-02
	kontrol 2	5.1208E-02	2,81E-02	.079	-6,3E-03	.10868
	kontrol negatif	-5,378E-02	2,81E-02	.066	-.11125	3.6925E-03
kontrol 2	perlakuan 1	1.6439E-02	2,81E-02	.563	-4,1E-02	7.3909E-02
	perlakuan 2	1.7827E-02	2,81E-02	.531	-4,0E-02	7.5297E-02
	perlakuan 3	-.13903*	2,81E-02	.000	-.19650	-8,156E-02
	kontrol 1	-5,121E-02	2,81E-02	.079	-.10868	6.2622E-03
	kontrol negatif	-.10499*	2,81E-02	.001	-.16246	-4,752E-02
kontrol negatif	perlakuan 1	.12142*	2,81E-02	.000	6,40E-02	.17889
	perlakuan 2	.12281*	2,81E-02	.000	6,53E-02	.18028
	perlakuan 3	-3,405E-02	2,81E-02	.236	-9,2E-02	2.3423E-02
	kontrol 1	5.3778E-02	2,81E-02	.066	-3,7E-03	.11125
	kontrol 2	.10499*	2,81E-02	.001	4,75E-02	.16246

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Oneway

### Test of Homogeneity of Variances

kadar superoksida dismutase

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.705	5	30	.039

### ANOVA

kadar superoksida dismutase

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16415.093	5	3283.019	7.266	.000
Within Groups	13555.325	30	451.844		
Total	29970.418	35			

## Oneway

### Descriptives

akar sod

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
perlakuan 1	6	9.4268	.4752	.1940	8.9281	9.9255
perlakuan 2	6	12.6643	1.5397	.6286	11.0485	14.2801
perlakuan 3	6	11.4508	.3595	.1468	11.0735	11.8280
kontrol 1	6	11.5405	.7646	.3121	10.7381	12.3429
kontrol 2	6	11.3058	.9471	.3866	10.3119	12.2997
kontrol negatif	6	11.3602	.7072	.2887	10.6181	12.1023
Total	36	11.2914	1.2678	.2113	10.8624	11.7204

### Test of Homogeneity of Variances

akar sod

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.911	5	30	.122

**ANOVA**

akar sod

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.724	5	6.545	8.342	.000
Within Groups	23.537	30	.785		
Total	56.261	35			



## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: akar sod  
LSD

(I) klp perlakuan	(J) klp perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
perlakuan 1	perlakuan 2	-3.2375*	.5114	.000	-4.2819	-2.1931
	perlakuan 3	-2.0240*	.5114	.000	-3.0684	-.9796
	kontrol 1	-2.1137*	.5114	.000	-3.1581	-1.0693
	kontrol 2	-1.8790*	.5114	.001	-2.9234	-.8346
	kontrol negatif	-1.9334*	.5114	.001	-2.9778	-.8890
perlakuan 2	perlakuan 1	3.2375*	.5114	.000	2.1931	4.2819
	perlakuan 3	1.2135*	.5114	.024	.1692	2.2579
	kontrol 1	1.1238*	.5114	.036	7,9E-02	2.1682
	kontrol 2	1.3585*	.5114	.013	.3141	2.4029
	kontrol negatif	1.3041*	.5114	.016	.2597	2.3485
perlakuan 3	perlakuan 1	2.0240*	.5114	.000	.9796	3.0684
	perlakuan 2	-1.2135*	.5114	.024	-2.2579	-.1692
	kontrol 1	-8,97E-02	.5114	.862	-1.1341	.9547
	kontrol 2	.1449	.5114	.779	-.8995	1.1893
	kontrol negatif	9.059E-02	.5114	.861	-.9538	1.1350
kontrol 1	perlakuan 1	2.1137*	.5114	.000	1.0693	3.1581
	perlakuan 2	-1.1238*	.5114	.036	-2.1682	-8,E-02
	perlakuan 3	8.974E-02	.5114	.862	-.9547	1.1341
	kontrol 2	.2347	.5114	.650	-.8097	1.2791
	kontrol negatif	.1803	.5114	.727	-.8641	1.2247
kontrol 2	perlakuan 1	1.8790*	.5114	.001	.8346	2.9234
	perlakuan 2	-1.3585*	.5114	.013	-2.4029	-.3141
	perlakuan 3	-.1449	.5114	.779	-1.1893	.8995
	kontrol 1	-.2347	.5114	.650	-1.2791	.8097
	kontrol negatif	-5,44E-02	.5114	.916	-1.0987	.9900
kontrol negatif	perlakuan 1	1.9334*	.5114	.001	.8890	2.9778
	perlakuan 2	-1.3041*	.5114	.016	-2.3485	-.2597
	perlakuan 3	-9,06E-02	.5114	.861	-1.1350	.9538
	kontrol 1	-.1803	.5114	.727	-1.2247	.8641
	kontrol 2	5.435E-02	.5114	.916	-.9900	1.0987

\*. The mean difference is significant at the .05 level.





DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
PROGRAM PASCASARJANA

Jl. Dharmawangsa Dalam Selatan Surabaya-60286 ☎ (031) 5023715, 5020170, Fax. : (031) 5030076  
E-mail : pasca@pasca.unair.ac.id URL Address : http://www.pasca.unair.ac.id

Nomor : 2905 /J03.4/PP/2002  
Lamp. : 1 lembar

02 Agustus 2002

Hal : Mohon SK Rektor tentang  
Pengangkatan Pembimbing  
Ketua dan Pembimbing

Yth. Rektor Universitas Airlangga  
Surabaya

Selubungan dengan pelaksanaan pendidikan Program Magister Program Pascasarjana Universitas Airlangga, maka dengan ini kami mohon diterbitkan S.K Rektor Universitas Airlangga tentang Pengangkatan Pembimbing Ketua dan Pembimbing Program Magister Program Pascasarjana Universitas Airlangga seperti daftar lampiran.

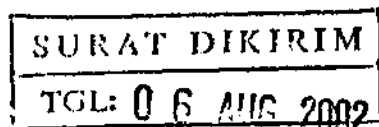
Perlu kami beritahukan bahwa peserta dengan biaya NON BPPS dibebankan pada dana DIK SUPLEMEN dan untuk biaya BPPS dibebankan pada DIP Universitas Airlangga tahun Anggaran 2002 berlaku Bulan Juli 2002

Atas perhatian Saudara, kami sampaikan terima kasih.



Direktor  
Asufi Halang Akademik,

Prof. Dr. Luba Mahaputera, drh, MSc.  
NIP. 130 687 550



**DAFTAR NAMA - NAMA PEMBIMBING KETUA DAN PEMBIMBING  
PROGRAM MAGISTER PROGRAM PASCASARJANA UNIVERSITAS AIRLANGGA**

NO	PEMBIMBING KETUA	PEMBIMBING	A.N. MAHASISWA	ANGKATAN TAHUN
	<b><u>BIAYA BPPS</u></b>			
1	Prof.dr.H.Ari Gunawan,MS., Ph.D	Prof.Retno Laksmingsih,S, MHPEd	Happy Harmono,Drg.	2000/2001 IKD
2	Hariyadi,Drs.,MA	Hariyadi,Drs.,MA	Justawan,Drs	2000/2001 IIS
3	Prof.dr.R.Bambang Wiryat- madi,MS,MCN,Ph.D	Dr.Hario Puntodewo Siswanto M, App.,Sc.,drh.	Hj.Siti Nur Chusnul Yus- miati S.Tp	2000/2001 IKM
4	Prof,Dr.H.Moch.Isnaeni,SH, MS	-	Budi Kusumaning Atik,SH	2000/2001 IH
5	Prof. Dr.Hotman M.Siahaan, MA	Drs. Doddy S.Singgih,MS	Agus Machfud Fauzi,A,Ag	2000/2001 IIS
	<b>BIAYA NON BPPS</b>			
1	Dra. Emy Susanti,MA	Haryadi,Drs.MA	Mukmina,S.,Ag	2000/2001 IIS
2	Drs.Lilik Rudianto, M,BA	Dr.H.Muslich Anshori,SE,M.Sc, Ak	Eka Yuliaty,SE	1999/2000
3	Prof.Bambang Rahino S,dr.	Dr. I. Ketut Suidiana,M.Si	Fadoli,S.Kp.	2000/2001 IKD

PERNYATAAN PEMBIMBINGAN

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

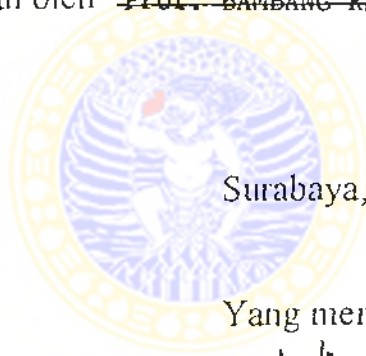
Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : P A D D L I  
N I M : 090014152  
Program Studi : IKD - BIOLOGI KEDOKTERAN

Dengan ini menyatakan memilih materi judul tesis :

Pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu terhadap aktifitas  
enzim Superoksida dismutase (SOD) dan malonaldehid (MDA) pada  
tikus ddewasa

dan telah mendapat persetujuan oleh ~~Prof. BAMBANG RAHINO S, dr.~~  
Sebagai pembimbing.



Menyetujui  
Pembimbing

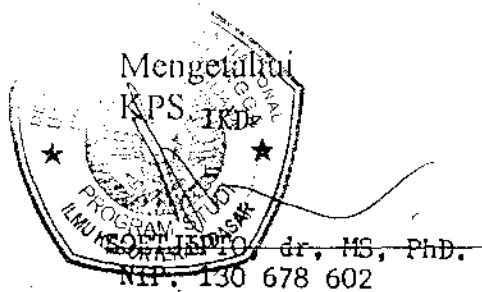
Prof. BAMBANG RAHINO S. dr.

NIP.130 162 016

Yang membuat pernyataan,

P A D O L I

NIP.0090014152



PERNYATAAN PEMBIMBINGAN  
ADLN-Perpustakaan Universitas Airlangga

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : P A D O L I  
N I M : 090014152 M  
Program Studi : IKD\_ BIOLOGI KEDOKTERAN

Dengan ini menyatakan memilih materi judul tesis :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu Terhadap Aktifitas

Enzim SOD dan MDA

dan telah mendapat persetujuan oleh DR. I KETUT SUDIANA MSi  
Sebagai pembimbing.

Surabaya,

Menyetujui  
Pembimbing



DR. I KETUT SUDIANA, MSi


NIP.

Yang membuat pernyataan,



P A D O L I

NIP. 090014152 M

Mengetahui  
KPS IKD  
  
G. SOETJIPTO, MS, PhD  
NIP. 130 678 602



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
ABEN Pustaka Universitas Airlangga

Jl. Dharmawangsa Dalam Selatan Surabaya-60286 ☎ (031) 5023715, 5020170, 5016090, 5016021, Fax. : (031) 503007  
E-mail : pasca@pasca.unair.ac.id URL Address : http://www.pasca.unair.ac.id

Nomor : *Cel 80* /J03.4/PP/2002

18 November 2002

Lamp :

Hal : Izin menggunakan fasilitas Laboratorium Fitokimia  
Fak.Farmasi Unair.

Yth. Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Airlangga  
Surabaya.

Guna penulisan penelitian untuk Tesis peserta Program Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Minat Studi Biologi Kedokteran angkatan tahun 2000/2001 Program Pascasarjana Universitas Airlangga,

Nama : Padoli,SKp.  
Nim : 090014152 / M  
Judul : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH MENGKUDU  
TERHADAP AKTIFITAS ENZIM SUPEREKSIDA DESMUTASE  
DAN MALENALDEHIDE PADA TIKUS DEWASA.

Maka dengan ini kami mohon perkenan Saudara untuk memberikan izin kepada yang bersangkutan untuk menggunakan fasilitas Laboratorium Fitokimia di Fakultas Farmasi Univ.Airlangga.

Demikian dan atas bantuan Saudara kami sampaikan terima kasih.



Direktur  
Bidang Akademik,

*[Signature]*  
Prof. Dr. Loba Mahaputra, drh, M.Sc.  
NID 130687550

Tindakan

- Kepala Lab.Fitokimia Fak.Farmasi Uniar.