

KARYA AKHIR

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L.*)
TERHADAP KADAR *REACTIVE OXYGEN SPECIES* PADA TIKUS
WISTAR HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI ALLOXAN**

***THE EFFECT OF KERSEN LEAVES EXTRACT (*Muntingia
calabura L.*) IN REACTIVE OXYGEN SPECIES OF ALLOXAN-
INDUCED HYPERGLYCEMIC WISTAR RATS***

**RABIAH
C175182006**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS ILMU GIZI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN – UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*
L.) TERHADAP KADAR *REACTIVE OXYGEN SPECIES*
PADA TIKUS WISTAR HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI
ALLOXAN**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis Gizi Klinik

Program Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

RABIAH

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
ILMU GIZI KLINIK
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN KARYA AKHIR

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L.*) TERHADAP KADAR
REACTIVE OXYGEN SPECIES PADA TIKUS WISTAR HIPERGLIKEMIA YANG
DIINDUKSI ALLOXAN**

Disusun dan diajukan oleh:

Rabiah
Nomor Pokok: C175182006

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk
dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Gizi Klinik
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 25 April 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui:

Pembimbing I

dr. Aminuddin, M.Nut&Diet,Ph.D, Sp.GK
NIP. 197607042002121003

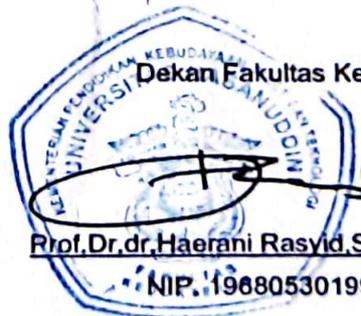
Pembimbing II

Prof.Dr.dr.Nurpudji A Taslim, MPH, Sp.GK(K)
NIP. 195610201985032001

Ketua Program Studi,

Prof.Dr.dr.Nurpudji A Taslim, MPH, Sp.GK(K)
NIP. 195610201985032001

Dekan Fakultas Kedokteran,



Prof.Dr.dr.Haerani Rasyid, Sp.PD-KGH Sp.GK
NIP. 196805301996032001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rabiah
No. Stambuk : C175182006
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu
Ilmu Gizi Klinik Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 22 April 2022

Yang menyatakan,



Rabiah

PRAKATA

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan anugrah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dan menjalani pendidikan PPDS Gizi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Gagasan yang melatarbelakangi penelitian ini berasal dari banyaknya obat-obatan herbal sebagai obat antihiperqlikemia. Kersen merupakan salah satu tanaman lokal di Indonesia yang sedang diteliti efeknya untuk terapi alternatif diabetes melitus. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk memahami efek kerja daun kersen pada hiperqlikemia.

Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada: dr. Aminuddin M. Nut & Diet, Ph.D, Sp.GK sebagai Ketua Komisi Penasehat dan Prof. Dr. dr. Nurpudji A. Taslim, MPH, Sp.GK(K) sebagai Sekretaris Komisi Penasehat yang sekaligus telah berkenan menjadi Pembimbing I dan Pembimbing II dan senantiasa meluangkan waktu, tenaga, serta pikiran di sela-sela kegiatannya yang padat, untuk membimbing dengan sabar dan memberi semangat mulai dari pengembangan ide penelitian hingga akhir penulisan tesis ini.

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M. Sc, Sp.GK(K) dan dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp. GK(K) serta Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M. Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK atas kesediaan sebagai penguji di antara kesibukan

yang sangat padat masih meluangkan waktu untuk memberikan sumbangan pikiran, kritik, dan saran yang sangat bermanfaat dalam membangun substansi tesis ini.

Orang tua saya tercinta Prof. H.A Waris, SE dan almarhumah Hj. Nursiah serta saudara-saudara penulis atas segala doa, dukungan serta cinta yang tak pernah berhenti yang telah mengantarkan penulis sampai pada tahap ini dan bisa menyelesaikan tesis ini.

Rekan penelitian penulis dr. Fitri Tyas, dr. Musyayyadah dan dr. Nathania yang telah bekerjasama dengan baik selama masa penelitian ini. Teman-teman residen dan para pegawai di Bagian Gizi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, serta semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penyelesaian tesis ini.

Makassar, 22 April 2022

Yang menyatakan,

Rabiah

ABSTRACT

RABIAH. *The Effect of Kersen Leaves Extract (Muntingia calabura L.) in Reactive Oxygen Species of Alloxan-Induced Hyperglycemic Wistar Rats* (Supervised by Aminuddin, Nurpudji Taslim, Suryani As'ad, Agussalim Bukhari, and Haerani Rasyid).

Kersen Leaves (*Muntingia calabura L.*) is commonly found in Indonesia and is known to have anti-diabetic effect due to its high flavonoid and antioxidative capacity. This study aims to determine the condition of reactive oxygen species (ROS) from kersen leaves extract, and the correlation between reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA) in hyperglycemic Wistar rats. This study used 44 male adult wistar rats (*Rattus norvegicus*) divided into 4 groups K1, K2, K3, and K4 group. Alloxan (100 mg/kg body weight) was used as a hyperglycemic agent for K2, K3, and K4 group. Kersen Leaves (500 mg/kg body weight) were administered to K3 group 7 days prior to alloxan administration and to K3 and K4 group 7 days after hyperglycemic condition was achieved. And then, the data were analyzed using t-independent test, Mann Whitney test, Kruskal Wallis test, Pearson test, and Spearman test. Comparison of ROS between groups after administration kersen leaves extract on the last day after alloxan administration show the significance of $p = 0.047$ ($p < 0.05$), which indicates a change in ROS. The comparison of ROS in the K1 vs K2 group obtains $p = 0.145$ ($p > 0.05$), the K1 vs K3 group obtains $p = 0.773$ ($p > 0.05$), the K1 vs K4 group obtains $p = 0.000$ ($p < 0.05$), the K2 vs K3 group obtains $p = 0.165$ ($p < 0.05$), the K2 vs K4 group obtains $p = 0.007$ ($p < 0.05$), and in the K3 vs K4 group it obtains $p = 0.034$ ($p < 0.05$). In terms of oxidative stress, the reactive oxygen species is correlated to malondialdehyde but significance only found in K4 group ($r = 0.733$, $p = 0.024$). So it is concluded that kersen leaves have a potential antihyperglycemic effect, probably by suppressing oxidative stress.

Keywords: *Muntingia calabura*, hyperglycemic, leaves kersen extract, oxidative stress



ABSTRAK

RABIAH. Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap Kadar Reactive Oxygen Species pada Tikus Wistar Hiperglikemia yang Diinduksi Alloxan (dibimbing oleh Aminuddin, Nurpudji Taslim, Suryani As & d, Agussalim Bukhari, dan Haerani Rasyid).

Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) banyak ditemukan di Indonesia dan diketahui memiliki efek antidiabetes karena memiliki kandungan flavonoid dan antioksidan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan mengetahui kondisi *reactive oxygen species* (ROS) dari ekstrak daun kersen serta hubungan *reactive oxygen species* (ROS) dengan malondialdehyde (MDA) pada tikus wistar hiperglikemik. Metode penelitian ini menggunakan 44 ekor tikus wistar dewasa jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok K-1, K-2, K-3, dan K-4. Alloxan (100 mg/kg berat badan) digunakan sebagai agen hiperglikemik untuk kelompok K-1, K-3, dan K-4. Daun kersen (500/kg berat badan) diberikan kepada kelompok K-3 selama tujuh hari sebelum pemberian alloxan dan kepada K-4 diberikan setelah kondisi hiperglikemik tercapai. Selanjutnya, data dianalisis dengan uji t-independen, uji Mann-Whitney, uji Kruskal, uji Pearson, dan uji Spearman. Hasil perbandingan ROS antarkelompok setelah pemberian ekstrak daun kersen pada hari terakhir setelah pemberian alloxan menunjukkan signifikansi $p=0,047$ ($p<0,05$), yang menunjukkan terjadinya perubahan ROS. Adapun perbandingan ROS pada kelompok K-1 vs K-2 diperoleh nilai $p=0,145$ ($p>0,05$), kelompok K-1 vs K-3 diperoleh nilai $p=0,773$ ($p>0,05$); kelompok K-1 vs K-4 diperoleh nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), kelompok K-2 vs K-3 diperoleh nilai $p=0,165$ ($p>0,05$), kelompok K-2 versus K-4 diperoleh nilai $p=0,007$ ($p<0,05$), dan pada kelompok K-3 vs K-4 diperoleh nilai $p=0,034$ ($p<0,05$). Dalam hal stress oksidatif, *reactive oxygen species* (ROS) berkorelasi dengan malondialdehyde (MDA), tetapi signifikansi hanya ditemukan pada kelompok K-4 ($r=0,733$, $p=0,024$). Simpulan penelitian bahwa daun kersen memiliki potensi efek antihiperglikemik yang dimungkinkan dengan menekan stress oksidatif.

Kata kunci: *Muntingia calabura*; hiperglikemia, ekstrak daun kersen, stress oksidatif



DAFTAR ISI

SAMPUL.....	
KARYA AKHIR.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
Pernyataan Keaslian Karya Akhir.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Hipotesis Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Hiperglikemia.....	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Epidemiologi	7
2.1.3 Diagnosis.....	8
2.1.4 Patofisiologis hiperglikemia.....	11
2.2 Reactive Oxygen Species (ROS)	15
2.2.1 Definisi	15
2.2.2 Mekanisme Radikal Bebas dalam tubuh dan pembentukan ROS.....	16
2.2.3 Pembentukan ROS pada hiperglikemia.....	17

2.3	Tikus Wistar.....	20
2.4	Alloxan.....	21
2.5	Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i>).....	22
	2.5.1 Kandungan Daun Kersen	24
	2.5.2 Manfaat Daun Kersen	28
2.6	Efek Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i>) terhadap ROS..	28
2.7	Efek Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i>) sebagai agen preventif pada hiperglikemia.....	31
BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEP		33
3.1	Kerangka Teori.....	33
3.2	Kerangka Konsep	34
3.3	Hipotesis.....	35
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....		36
4.1	Rancangan Penelitian.....	36
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	37
4.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	37
4.4	Besar Sampel.....	37
4.5	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	37
4.6	Identifikasi dan klasifikasi variable.....	38
4.7	Definisi Operasional.....	39
4.8	Kriteria Objektif	40
4.9	Alur Penelitian dan Metode Kerja	41
4.10	Izin Penelitian.....	44
4.11	Analisis Data.....	45
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....		46
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		64
DAFTAR PUSTAKA		65

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kriteria Diagnosa Diabetes Melitus.....	8
Tabel 2. Kandungan Antioksidan Daun Kersen.....	39
Tabel 3. Analisis normalitas data ROS dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk	46
Tabel 4. Analisis normalitas data MDA dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk.....	47
Tabel 5. Karakteristik Dasar Kadar ROS dan MDA.....	48
Tabel 6. Nilai ROS dalam setiap kelompok.....	49
Tabel.7. Nilai ROS pada kelompok Preventif.....	51
Tabel.8. Perbandingan ROS dalam setiap kelompok.....	53
Tabel 9. Perbandingan ROS dalam antar kelompok pada H10 dan H17 pasca pemberian Alloxan.....	55
Tabel 10. Nilai MDA dalam setiap kelompok.....	56
Tabel.11 Nilai MDA pada kelompok Preventif.....	57
Tabel.12. Perbandingan MDA dalam setiap kelompok.....	58
Tabel 13. Perbandingan MDA dalam antar kelompok pada H10 dan H17 pasca pemberian Alloxan.....	59
Tabel 14. Korelasi ROS dan MDA.....	61
Tabel 15. Analisis Post Hoc Kadar ROS antar kelompok.....	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Perjalanan Insulin.....	13
Gambar 2. Hubungan Spektrum hiperglikemia dengan Type DM.....	15
Gambar 3. Pembentukan Radikal OH.....	16
Gambar 4. Efek hiperglikemia terhadap komplikasi diabetic.....	17
Gambar 5. Mekanisme Stress Oksidatif terhadap hiperglikemia.....	19
Gambar 6. Tanaman <i>Muntingia calabura</i>	23
Gambar 7. Struktur Kimia Flavonoid.....	25
Gambar 8. Metabolisme flavonoid pada tubuh.....	26
Gambar 9. Alur Penelitian.....	41
Gambar 10. Distribusi kematian tikus.....	48
Gambar 11. Diagram batang yang menunjukkan ROS pada masing-masing kelompok.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN SPSS.....	72
--------------------	----

DAFTAR SINGKATAN

ADA	: <i>American Diabetes Association</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycation Endproducts</i>
ATP	: Adenosina Trifosfat
CRP	: C-Reactive Protein
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
NO	: Nitrit Oxide
IDF	: <i>International Diabetes Federation</i>
DMT1	: Diabetes Melitus Tipe 1
DMT2	: Diabetes Melitus Tipe 2
MLME	: Muntingia calabura methanol ekstrak
GLUT2	: Glucose Transferter Type 2
GLUT4	: Glucose Transferter Type 2
AIR	: Acute Insulin Secretion Response
IRSs	: Insulin receptor substrate
LDL	: Low Density Lipoprotein
PI3K	: Phosphoinositide 3-Kinase
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
PKB	: Protein Kinase B
PKC	: Protein Kinase C
ROS	: Reactive Oxygen Species
SOD	: Superoksida dismutase
GPx	: Glutathione peroxidase
Prx	: Peroxiredoxin
MDA	: Malondialdehid

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperglikemia merupakan pengertian dari suatu kondisi ketika kadar glukosa darah meningkat melebihi batas normalnya. Hiperglikemia menjadi salah satu gejala awal seseorang mengalami gangguan metabolik yaitu diabetes mellitus (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Data Riset Kesehatan Dasar 2013 menunjukkan bahwa jumlah penderita diabetes dengan ciri khusus yaitu kondisi hiperglikemia di Indonesia semakin meningkat sejak tahun 2007 yaitu sebesar 5,7% menjadi 6,8% di tahun 2013. Hiperglikemia dapat disebabkan oleh ketidakmampuan pankreas dalam menghasilkan insulin maupun ketidakmampuan tubuh dalam menggunakan insulin yang dihasilkan dengan baik (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Hiperglikemia kronik pada diabetes melitus berhubungan dengan komplikasi akut dan kronik yang berhubungan dengan tingginya angka morbiditas dan mortalitas. (Suyono et al., 2009)

Prevalensi diabetes melitus (DM) secara global berdasarkan data *International Diabetes Federation* (IDF) adalah sekitar 425 juta orang pada tahun 2017 dan diprediksi meningkat menjadi 693 juta orang pada tahun 2045. Penyakit diabetes melitus juga mempunyai angka mortalitas yang tinggi, yaitu sebesar 4 juta penduduk (10,7%) secara global pada tahun 2017. Indonesia menempati urutan keenam dengan estimasi jumlah penyandang DM yaitu sebesar 10,3 juta (8,8%) penduduk pada tahun 2017 dan diproyeksikan meningkat menjadi 16,7 juta (9,9%) pada tahun 2045. (IDF Diabetes Atlas, 2019). Prevalensi diabetes melitus di Sulawesi Selatan sebesar 1.8%. (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2018)

Glukosa dapat teroksidasi sebelum berikatan dengan protein, demikian juga glukosa setelah berikatan dengan protein (glycated protein) dapat teroksidasi menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kombinasi glikasi dan oksidasi glukosa menghasilkan pembentukan AGEs

(advanced glycation end-products). Oleh karena itu ROS disebut fixatives of glycation. Akumulasi AGEs pada protein lebih lanjut diikuti dengan browning, peningkatan fluorescence dan cross-linking. Proses pembentukan AGEs merupakan proses irreversible yang berlangsung lama dan dapat menimbulkan kerusakan jaringan. (Widowati, W. 2008)

Hiperglikemia menyebabkan beberapa jalur sinyal metabolik yang dapat berujung pada inflamasi, sekresi sitokin, kematian sel dan komplikasi diabetes. Selain itu, hiperglikemia ditemukan dapat mengaktifkan beberapa rute metabolik yang melibatkan *diacylglycerol* (DAG) – protein kinase C (PKC) dan NADPH-oksidadase yang menyebabkan timbulnya *Reactive Oxygen Species* (ROS). Proses *signaling* ini mendapatkan perhatian untuk kontrol dari angiogenesis, stres oksidatif akibat ROS dan kematian selular. Saat ini ROS ditemukan diinduksi oleh hiperglikemia pada pasien diabetes melalui berbagai enzim pada respirasi di mitokondria, *xanthine oxidases*, *lipoxygenases*, *cyclooxygenases*, sintesis *nitric oxide* (NO) dan peroksidase. (Volpe *et al.*, 2018)

Peningkatan produksi ROS yang mengakibatkan stres oksidatif dapat menimbulkan aktivasi apoptosis pada sel beta-pankreas. Selanjutnya, apoptosis dan necroptosis memiliki peran penting pada progresi komplikasi diabetes dan membuat kerusakan jaringan jantung, retina, ginjal dan sistem saraf. Ketidakseimbangan antara autofagi dan apoptosis dapat menimbulkan progresi dari komplikasi diabetes. (Volpe *et al.*, 2018). Banyak sel kapiler endotel rusak di bawah kondisi ini. Stres oksidatif juga dikatakan sebagai suatu keadaan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan. (Hudish LI *et al.*, 2019).

Komponen lipid dari ROS yang teroksidasi dapat menghasilkan Malondialdehyde (MDA). Evaluasi MDA dapat digunakan sebagai penanda Stres oksidatif yang secara tidak langsung dapat menggambarkan efek ROS karena senyawa ROS bersifat reaktif (Sunita R *et al.*; 2020)

Dalam terapi farmakologis dengan menggunakan obat sintesis (OHO) dan injeksi insulin selain harganya mahal juga memiliki efek samping seperti hipoglikemia, gejala dispepsia dan respon imun terhadap insulin sehingga akan timbul reaksi alergi insulin bahkan resistensi (PERKENI, 2011). Alternatif lain yang ditawarkan adalah dengan menggunakan obat dari tanaman yang mempunyai efek hipoglikemik. Hal ini terutama dikarenakan obat oral antihiperqlikemik sintesis yang ada belum sepenuhnya mampu mengatasi permasalahan pada penderita dan memiliki berbagai efek samping. Oleh karena itu diperlukan terapi alternatif, salah satunya pengobatan tradisional menggunakan tanaman yang memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah (Malviya et al., 2010). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah kersen.

Muntingia calabura L. atau dikenal secara lokal dengan Kersen (Makassar), atau Talok (Jawa), atau Kerukup Siam (Malaysia) merupakan tanaman herbal pengobatan yang saat ini sedang banyak diteliti dan mengandung alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid dan tannin. Fenolik dan flavonoid merupakan komponen yang memiliki aktivitas antioksidan. Efek lain dari tanaman ini adalah antinosiseptif, antiulkus dan antiinflamasi. Tanaman ini berasal dari Meksiko Selatan, namun banyak ditemukan juga di Asia Tenggara. (Mahmood *et al.*, 2014). Sebagai salah satu tanaman yang banyak dan mudah ditemukan di Indonesia, *Muntingia calabura L.* (Kersen) berpotensi menjadi salah satu pengobatan DM.

Pemberian antioksidan merupakan usaha menghambat produksi radikal bebas intraseluler atau meningkatkan kemampuan enzim pertahanan terhadap radikal bebas guna mencegah munculnya stres oksidatif dan komplikasi vaskular terkait diabetes. Berbagai macam suplemen yang mengandung antioksidan dan atau faktor yang dapat meningkatkan produksi nitrit oksida (NO) berpotensi untuk memperbaiki disfungsi endotel dan fungsi mitokondria dalam sel, serta menurunkan aktifitas dari enzim NAD(P)H oksidase. (Bajaj S. & Khan A, 2012).

Penurunan kadar ROS intraseluler pada penelitian yang dilakukan oleh Aulia Nur dengan menggunakan ekstrak daun Kersen diduga merupakan pengaruh dari senyawa fenol khususnya flavonoid yang dapat berperan langsung dan mengembalikan keseimbangan sistem antioksidan endogen sel fibroblas. Mekanisme MLME (*M. Calbura* Methanol Ekstrak) dalam menurunkan ROS intraseluler masih belum dapat dijelaskan melalui penelitian ini (Aulia Nur R, et al; 2018)

Penelitian yang dilakukan oleh Sridhar et al. (2011), menyatakan bahwa Efek hipoglikemik dan antihiperlikemik ekstrak metanol daun *Muntingia calabura L* dievaluasi pada tikus diabetes normoglikemik, mengandung glukosa dan aloksan (135 mg / Kg berat badan), Ekstrak daun *Muntingia calabura L* (500 mg / kg berat badan) secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah ke tingkat yang sebanding dengan yang diproduksi oleh obat antidiabetik standar (Glipizide 5 mg / Kg berat badan) pada tikus normal dan diabetes. Ekstrak daun *Muntingia calabura L* (500 mg / kg berat badan) meningkatkan toleransi glukosa pada tikus yang mengandung glukosa. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari *Muntingia calabura L*. daun memiliki hasil yang signifikan sebagai aktivitas antidiabetes.(Sridhar et al, 2011)

Penelitian lain yang dilakukan oleh Sindhe et al (2013) menunjukkan ekstrak etanol daun kersen memiliki aktivitas lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan ekstrak air dan kloroform daun kersen. Efek penurunan kadar glukosa darah diperlihatkan pada dosis pemberian 250, 500, dan 1000 mg/kgBB terhadap tikus diabetes selama 14 hari perlakuan (Sindhe et al., 2013).

Alloxan dan streptozotocin adalah agen diabetogenik paling populer yang digunakan untuk menilai kapasitas antidiabetes atau hipoglikemik senyawa uji. Alloxan khususnya, jauh lebih murah dan lebih mudah didapat dibandingkan Streptozotocin sehingga penggunaan aloksan dalam studi diabetes eksperimental sering digunakan (Ighodaro. O et al, 2017). Penting untuk diketahui bahwa percobaan diabetes pada hewan adalah

faktor yang sangat berguna untuk mendapatkan wawasan baru tentang diabetes pada manusia. Percobaan pada hewan yang diinduksi oleh bahan kimia, seperti alloxan, menunjukkan sindrom resistensi insulin dan diabetes tipe 2 (Ceretta, L. B., 2012).

Dari penelitian yang dilakukan sebelumnya, belum ada penelitian mengenai pengaruh ekstrak *Muntingia calabura L.* (Kersen) terhadap kadar *reactive oxygen species* (ROS) pada tikus wistar hiperglikemia yang diinduksi alloxan. Oleh sebab itu, peneliti bermaksud untuk melihat potensi ekstrak *Muntingia calabura L.* (Kersen) terhadap kadar *reactive oxygen species* (ROS) pada tikus wistar hiperglikemia yang diinduksi alloxan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

“Apakah ada pengaruh antara ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar *reactive oxygen species* (ROS) tikus Wistar hiperglikemia yang diinduksi alloxan?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh antara ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar *reactive oxygen species* (ROS) pada tikus Wistar hiperglikemia yang diinduksi alloxan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menilai hubungan antara ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar *reactive oxygen species* (ROS) pada tikus Wistar hiperglikemia yang diinduksi alloxan.
2. Menilai hubungan antara ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar *reactive oxygen species* (ROS) dan Malondealdehid (MDA) pada tikus Wistar hiperglikemia yang diinduksi alloxan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang pengaruh ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan juga hubungan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan Malondialdehid (MDA) pada tikus Wistar hiperglikemia yang diinduksi alloxan sehingga menjadi informasi tambahan bagi penelitian selanjutnya.

1.4.2 Aplikasi

Penelitian ini diharapkan dapat memberi pemahaman proses penyakit, kemungkinan pengembangan upaya preventif, tatalaksana, penentuan prognosis dan pemantauan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperglikemia

2.1.1 Definisi

Hiperglikemia merupakan kondisi berupa terjadinya peningkatan kadar glukosa darah dalam tubuh melebihi batas normal (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015). Hiperglikemia adalah suatu gejala yang timbul akibat ketidakmampuan pankreas dalam menghasilkan cukup insulin maupun ketidakmampuan tubuh dalam menggunakan insulin yang dihasilkan dengan baik (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Hiperglikemia menjadi salah satu tanda awal seseorang mengalami diabetes mellitus (DM) (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015).

2.1.2 Epidemiologi

Hiperglikemia menjadi salah satu gejala awal seseorang mengalami gangguan metabolik yaitu diabetes mellitus. Jumlah penderita diabetes yang ditandai dengan hiperglikemia terus meningkat yaitu sebesar 5,7% pada tahun 2007 menjadi 6,8% pada tahun 2013. Data Riset Kesehatan Dasar 2013 menunjukkan bahwa jumlah penderita diabetes dengan ciri khusus yaitu kondisi hiperglikemia di Indonesia semakin meningkat sejak tahun 2007 yaitu sebesar 5,7% menjadi 6,8% di tahun 2013. (Kementerian Kesehatan RI, 2014)

Prevalensi Diabetes Melitus (DM) secara global berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) adalah sekitar 108 juta orang pada tahun 1980 menjadi 422 juta orang pada tahun 2014 dan menempati urutan ketujuh dari seluruh penyebab kematian secara global pada tahun 2030 (WHO, 2016). Organisasi *International Diabetes Federation* pada tahun 2019 menempatkan Indonesia di peringkat nomor 6 di dunia dengan jumlah penderita DM sebanyak 10 juta orang. (IDF Diabetes Atlas, 2019). Prevalensi diabetes melitus di Sulawesi Selatan sebesar 1.8%. (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2018).

2.1.3 Diagnosis

Secara tradisional hiperglikemia didefinisikan jika kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dl. Sejak tahun 2010, American Diabetes Association dalam Standards of Medical Care in Diabetes mendefinisikan hiperglikemia pada pasien yang dirawat adalah jika kadar glukosa darah >140 mg/dl. (Dungan et al., 2009)

Stress hiperglikemia adalah hiperglikemia yang timbul pada saat seseorang menderita sakit dimana pada individu tersebut terbukti tidak menderita diabetes sebelumnya (Dungan et al., 2009). American Diabetes Association (ADA) dalam review teknisnya membagi penderita dengan hiperglikemia menjadi tiga kelompok:

1. Penderita yang memiliki riwayat diabetes: penderita sudah terdiagnosis menderita diabetes dan mendapat terapi dari dokter.
2. Penderita yang tidak diketahui menderita diabetes: hiperglikemia yang terdeteksi pada saat penderita dirawat dan dikonfirmasi sebagai diabetes setelah dilakukan pemeriksaan tertentu. Atau dengan kata lain penderita yang baru terdiagnosis menderita diabetes.
3. Hospital-related hiperglikemia : hiperglikemia yang timbul selama penderita dirawat di rumah sakit dan kembali normal setelah pasien pulang. Inilah yang dikenal sebagai stress hiperglikemia. (Clement S et al., 2004)

Kondisi hiperglikemia yang terjadi pada pasien yang diketahui tidak menderita diabetes, harus dilengkapi dengan pemeriksaan A1c. Peningkatan kadar A1c $> 6,5$ persen mengindikasikan bahwa pasien sudah menderita diabetes sebelumnya. (Egi M et al., 2008)

Beberapa faktor penyebab hiperglikemia dapat berasal dari pasien, penyakit dan terapinya. Hiperglikemia sebaliknya juga dapat memperberat penyakit sehingga membutuhkan penambahan terapi di mana terapi tertentu juga dapat menyebabkan hiperglikemia. Hal ini menciptakan sebuah siklus di mana hiperglikemia menyebabkan hiperglikemia lebih lanjut.

Berbagai keluhan dapat ditemukan pada pasien diabetes. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan klasik DM seperti poliuria, polidipsia, polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya. Keluhan lain dapat berupa lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur dan disfungsi ereksi pada pria, serta pruritus vulvae pada wanita. Apabila ditemukan keluhan klasik DM, pemeriksaan glukosa darah abnormal satu kali saja sudah cukup untuk menegakkan diagnosis, namun apabila tidak ditemukan keluhan klasik DM, maka diperlukan dua kali pemeriksaan glukosa darah abnormal (PERKENI, 2011). Diagnosis DM juga dapat ditegakkan melalui cara pada tabel 1.

Tabel 1 Kriteria diagnosis DM

1. Gejala klasik DM+glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/ dL (11,1mmol/ L). Glukosa plasma sewaktu merupakan hasil pemeriksaan sesaat pada suatu hari tanpa memperhatikan waktu makan terakhir Atau
2. Gejala klasik DM+glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/ dL (7.0 mmol/ L). Puasa diartikan pasien tak mendapat kalori tambahan sedikitnya 8 jam Atau
3. Kadar gula plasma 2 jam pada TTGO ≥ 200 mg/ dL (11,1 mmol/ L). TTGO yang dilakukan dengan standar WHO, menggunakan beban glukosa yang setara dengan 75 g glukosa anhidrus yang dilarutkan kedalam air.

Sumber: Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus tipe 2, PERKENI 2011

DM merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai oleh kadar glukosa darah melebihi normal yang disebabkan oleh kekurangan hormon insulin secara relatif maupun absolut (*American Diabetes Association, 2015*).

Diabetes dibagi menjadi:

1. Diabetes tipe 1 (*insulin-dependent diabetes*) terjadi karena adanya gangguan pada pankreas, menyebabkan pankreas tidak mampu memproduksi insulin dengan optimal. Pankreas memproduksi insulin dengan kadar yang sedikit dan dapat berkembang menjadi tidak mampu lagi memproduksi insulin. Akibatnya, penderita diabetes tipe 1 harus mendapat injeksi insulin dari luar. Penyebab diabetes tipe 1

tidak diketahui dan kejadian ini masih belum dapat dicegah dengan ilmu yang ada pada saat ini. Gejalanya meliputi frekuensi ekskresi urin yang berlebihan (poliuria), kehausan (polidipsia), lapar yang terus menerus, berat badan yang menurun, gangguan penglihatan, dan kelelahan. Gejala-gejala ini dapat muncul secara tiba-tiba (WHO, 2016).

2. Diabetes tipe 2 merupakan penyakit diabetes yang disebabkan karena sel-sel tubuh tidak merespon insulin yang dilepaskan oleh pancreas. Diabetes tipe 2 dialami hampir 90% manusia didunia, dan secara umum penyakit ini adalah hasil dari berat badan berlebih dan kurangnya aktifitas fisik. Gejalanya mirip dengan diabetes tipe 1, tetapi biasanya tidak terasa. Hasilnya, penyakit ini terdiagnosa bertahun-tahun setelah awal mula terjadinya penyakit, ketika sudah timbul komplikasi (WHO, 2016).
3. Diabetes gestasional adalah diabetes yang disebabkan karena kondisi kehamilan. Gejala diabetes gestasional mirip dengan gejala diabetes tipe 2. Diabetes gestasional lebih sering terdiagnosa melalui prenatal skrining dari pada gejala yang dilaporkan (WHO, 2016).

4. Diabetes tipe lain

Diabetes melitus tipe khusus merupakan diabetes yang terjadi karena adanya kerusakan pada pankreas yang memproduksi insulin dan mutasi gen serta mengganggu sel beta pankreas, sehingga mengakibatkan kegagalan dalam menghasilkan insulin secara teratur sesuai dengan kebutuhan tubuh. Subkelas DM di mana individu mengalami hiperglikemia akibat kelainan spesifik (kelainan genetik fungsi sel beta), endokrinopati (penyakit Cushing's, akromegali), penggunaan obat yang mengganggu fungsi sel beta (dilantin), penggunaan obat yang mengganggu kerja insulin (b-adrenergik), dan infeksi/sindroma genetic (Down's, Klinefelter's) (*American Diabetes Association*, 2015).

2.1.4 Patofisiologis Hiperglikemia

Hiperglikemia dapat terjadi akibat defisiensi insulin seperti pada DMT1 ataupun akibat resistensi insulin seperti pada DMT2. Pada DMT1 terjadi dismetabolisme hiperglikemia karena defisiensi insulin, dimana hiperglikemia dan ketosis dapat dilihat sebagai penanda defisiensi insulin. Lebih lanjut lagi, pada DMT1, defisiensi insulin menyebabkan penurunan transpor reseptor insulin ke membran sel sehingga menyebabkan dismetabolisme sel-sel dalam sebuah organisme secara umum. Pada DMT2, gangguan transduksi signal untuk proses kerja insulin dapat terjadi sehingga mengurangi asupan glukosa ke sel yang berujung pada hipofungsi dari insulin. (Simon and Wittmann, 2019).

Insulin merupakan hormon yang terdiri dari rangkaian asam amino, dihasilkan oleh sel beta kelenjar pankreas. Sintesis insulin dimulai dalam bentuk preproinsulin (prekursor hormon insulin) pada retikulum endoplasma sel beta.

Dengan bantuan enzim peptidase, preproinsulin mengalami pemecahan sehingga terbentuk proinsulin, yang kemudian dihimpun dalam gelembung-gelembung (*secretory vesicles*) dalam sel tersebut. Dengan bantuan enzim peptidase, proinsulin diurai menjadi insulin dan peptida-C yang keduanya sudah siap untuk disekresikan secara bersamaan melalui membran sel.

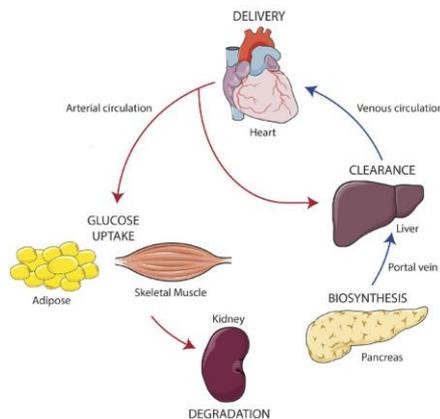
Dalam keadaan fisiologis, insulin disekresikan sesuai dengan kebutuhan normal tubuh oleh sel beta dalam dua fase atau dengan nama lain dinamakan *biphasic*. Fase 1 (*acute insulin secretion response = AIR*) adalah sekresi insulin yang terjadi segera setelah ada rangsangan terhadap sel beta, muncul cepat dan berakhir juga cepat. Setelah fase 1 berakhir, muncul sekresi fase 2 (*sustained phase, latent phase*), dimana sekresi insulin kembali meningkat secara perlahan dan bertahan dalam waktu yang relatif lama (Afif, 2015). Interaksi antara reseptor insulin kemudian membuat terjadinya autofosforilasi pada reseptor tersebut dan aktivasi protein intraselular yaitu *insulin receptor substrates* (IRSs) dan

kemudian terjadi fosforilasi *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K) yang berujung pada aktivasi *3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1* (PDK1). Proses ini kemudian membuat terjadinya migrasi dan aktivasi dari protein kinase B (PKB/Akt) dan atipikal PKC yang kemudian membuat translokasi GLUT4 dari intraselular ke membran sel. Hasil akhir dari proses ini adalah masuknya glukosa ke dalam sel melalui GLUT4 dan selanjutnya akan dimetabolisme. Sintesis protein pada sel otot juga bersifat responsif terhadap sinyal Akt dengan beberapa jalur efektor *downstream* seperti mTOR. (Newsholme *et al.*, 2014)

Semua tipe diabetes terjadi akibat defisiensi relatif kerja insulin. Selain itu, pada diabetes tipe 1 dan 2, kadar glukagon tampak meningkat secara abnormal. Gangguan metabolik yang terjadi bergantung pada derajat penurunan kerja insulin. Jaringan adiposa paling peka terhadap kerja insulin. Karena itu, rendahnya aktivitas insulin dapat menyebabkan penekanan lipolisis dan peningkatan penyimpangan lemak. Kadar insulin yang lebih tinggi diperlukan untuk melawan efek glukagon di hati dan menghambat pengeluaran glukosa oleh hati. Pada orang normal, kadar basal aktivitas insulin mampu mementarai berbagai respon tersebut. Namun, kemampuan otot dan jaringan pekainsulin lainnya untuk berespon terhadap pemberian glukosa dengan menyerap glukosa (melalui perantara insulin) memerlukan sekresi insulin yang terstimulasi dari pankreas. (Afif, 2015).

Insulin ditranskripsi dan diekspresikan oleh sel beta pankreas yang kemudian diekspor melalui sirkulasi portal ke liver (1). Pada perjalanan pertama ini, 50% insulin dibuang (*first pass*) oleh hepatosit dan sisanya akan keluar melalui vena hepatica yang kemudian menuju jantung melalui vena. Insulin kemudian didistribusikan ke seluruh tubuh melalui sirkulasi arteri. Sepanjang perjalanan arterial, insulin merangsang vasodilatasi dan kemudian memasuki liver kembali, menjalankan aksi metabolik dan dibuang (*second pass*). Insulin keluar dari sirkulasi pada level mikrovaskularisasi, mencapai otot dan sel lemak dan berikatan dengan

reseptor insulin. Insulin lain yang tersisa di darah kemudian akan didegradasi oleh ginjal. (Tokarz, MacDonald and Klip, 2018)



Gambar 1. Perjalanan Insulin. (Tokarz, MacDonald and Klip, 2018)

Penurunan ringan kerja insulin mula-mula bermanifestasi sebagai ketidakmampuan jaringan peka insulin untuk mengurangi beban glukosa. Secara klinis, hal ini menimbulkan hiperglikemia pasca makan (*postprandial hyperglycemia*). Pengidap diabetes tipe 2 yang masih menghasilkan insulin tetapi mengalami peningkatan resistensi insulin, akan mengalami peningkatan gangguan uji toleransi glukosa. Namun, kadar glukosa puasa tetap normal karena aktivitas insulin masih cukup untuk mengimbangi pengeluaran glukosa (yang diperantarai oleh glukagon) oleh hati. Jika efek insulin semakin menurun, efek glukagon terhadap hati tidak mendapat perlawanan yang berarti sehingga terjadi hiperglikemia pascamakan dan hiperglikemia puasa (Afif, 2015)

Mekanisme terjadinya resistensi insulin memang belum diketahui dengan baik, namun dugaannya kelaianan ini diawali dengan sebuah kesalahan pada postreseptor. Kelainan yang diakibatkan oleh kejadian ini mencakup penumpukan lemak pada sel-sel otot, kerusakan pada fosforilasi oksidatif mitokondria, dan penurunan produksi *insulin-stimulated mitochondrial ATP*). Selain daripada faktor post-reseptor, obesitas juga memiliki peranan dalam pembentukan resistensi insulin. Peningkatan

massa adiposit, akan mengakibatkan meningkatnya asam lemak, leptin, resistin, adiponektin, dll. Sel-sel adiposit yang menumpuk ini akan mengeluarkan beberapa zat termasuk diantaranya; asam lemak, *retinol-binding protein 4*, leptin, TNF- α , resistin, dan adiponektin. Selain daripada zat-zat biologis yang memperberat kondisi insulin resisten ini, beberapa penanda inflamasi juga dapat meningkat (IL-6 dan *C-reactive protein*). (Longo, 2012)

Penurunan daripada sekresi insulin pada pasien DM, diawali dengan peningkatan terlebih dahulu sebagai respon dari resistensi insulin. Patogenesis dibalik terjadinya penurunan sekresi insulin juga masih belum diketahui, namun dugaan terbesar adalah akibat daripada faktor genetic sekunder *superimposed* terhadap resistensi insulin, sehingga menyebabkan kegagalan dari sel beta. (Longo, 2012).

Kerusakan sel beta pankreas pada diabetes mellitus tipe 1 disebabkan oleh autoimun yang menyebabkan defisiensi insulin yang bersifat absolut. Sementara itu, pada diabetes mellitus tipe 2, terjadi penurunan progresif dari sekresi insulin beta pankreas dengan adanya resistensi insulin. Pada DM1, kerusakan akibat proses autoimun pada sel beta pankreas yang menyebabkan disfungsi dan apoptosis merupakan konsekuensi dari interaksi kompleks antara makrofag dan sel-T yang melepaskan berbagai kemokin dan sitokin. Interaksi ini dipengaruhi oleh gen, usia, dan faktor lingkungan seperti infeksi virus dan diet. Pada defisiensi insulin relatif yang terjadi pada DM2, disfungsi sel beta pankreas merupakan kunci penting. (Eizirik, Pasquali and Cnop, 2020)

Type of Diabetes	Normal glucose tolerance	Hyperglycemia		
		Pre-diabetes*		Diabetes Mellitus
		Impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance	Not insulin requiring	Insulin required for control Insulin required for survival
Type 1		→		
Type 2		←→		
Specific types		←→		
Gestational diabetes		←→		
Time (years)		→		
FPG	<5.6 mmol/L (100 mg/dL)	5.6–6.9 mmol/L (100–125 mg/dL)	≥7.0 mmol/L (126 mg/dL)	
2-h PG	<7.8 mmol/L (140 mg/dL)	7.8–11.0 mmol/L (140–199 mg/dL)	≥11.1 mmol/L (200 mg/dL)	
HbA1C	<5.6%	5.7–6.4%	≥6.5%	

Gambar 1. Hubungan Spektrum Hiperqlikemia dengan Tipe Diabetes Mellitus. (Jameson et al., 2018)

2.2 Reactive Oxygen Species (ROS)

2.2.1 Definisi

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah radikal bebas yang berupa oksigen dan turunannya yang sangat reaktif. Radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap molekul protein, DNA, lemak membran sel, dan komponen sel atau jaringan yang lain, oleh karena itu *Reactive Oxygen Species* (ROS) memiliki satu atau lebih atom yang tidak berpasangan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dihasilkan pada saat terjadinya metabolisme oksidatif dalam tubuh seperti proses oksidasi makanan menjadi energi (Schieber M & Chandel NS; 2014)

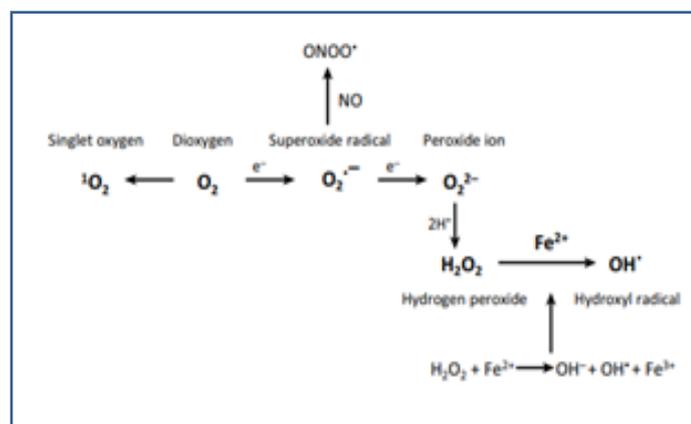
Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan kelompok radikal bebas yang paling penting dihasilkan oleh tubuh. Molekul oksigen (dioksigen) memiliki konfigurasi elektronik yang unik dan itu sendiri merupakan radikal. Penambahan satu electron untuk membentuk dioksigen anion superoksida radikal ($O_2^{\bullet-}$). Superoksida anion, yang terbentuk baik melalui proses metabolisme atau aktivasi oksigen oleh radiasi fisik, dianggap sebagai ROS primer yang selanjutnya dapat

berinteraksi dengan molekul lain untuk menghasilkan ROS sekunder, baik secara langsung maupun melalui proses enzimatik atau yang dikatalisis logam (Valko et al., 2007 & Anuj et al., 2016).

2.2.2 Mekanisme Radikal Bebas dalam Tubuh dan Pembentukan *Reactive Oxygen Species (ROS)*

ROS dihasilkan dari reaksi oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, autoksidasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi, dan melalui ischemic. Oksidasi enzimatik menghasilkan oksidan asam hipoklorit. Di mana sekitar 70-90 % konsumsi O_2 oleh sel fagosit diubah menjadi superoksida dan bersama dengan $\cdot OH$ serta $HOCl$ membentuk H_2O_2 dengan bantuan bakteri. Autoksidasi adalah senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzilik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara. Dalam sistem transpor electron, oksigen menerima 1 elektron membentuk superoksida. Adanya ion logam transisi dalam tubuh seperti Co dan Fe memfasilitasi produksi singlet oksigen dan pembentukan radikal $\cdot OH$ melalui reaksi Haber-Weiss: $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + OH^- + Fe^{3+}$ (Mittler R, 2017)

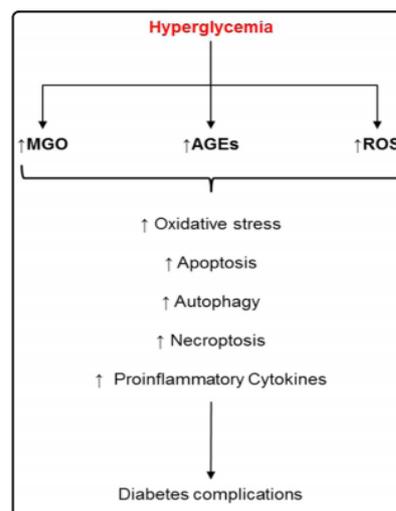
Secara singkat, xantin oksida selama ischemic menghasilkan superoksida dan xantin. Xantin yang mengalami produksi lebih lanjut menyebabkan asam urat (Anuj et al., 2016)



Gambar 3. Pembentukan radikal OH (Mittler R, 2017)

2.2.3 Pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada Hiperglikemia

Hiperglikemia memicu beberapa jalur pensinyalan metabolik yang menyebabkan peradangan, sekresi sekresi, kematian sel, dan akibatnya menyebabkan komplikasi diabetes. Hal ini mengakibatkan peradangan di pembuluh darah dan / atau di saraf, seperti nefropati, retinopati, dan penyakit kardiovaskular (Volpe *et al.*, 2018)



Gambar 4. Efek hiperglikemia terhadap komplikasi diabetik (Volpe *et al.*, 2018)

Hiperglikemia menyebabkan beberapa jalur sinyal metabolik yang dapat berujung pada inflamasi, sekresi sitokin, kematian sel dan komplikasi diabetes. Selain itu, hiperglikemia ditemukan dapat mengaktifkan beberapa rute metabolik yang melibatkan *diacylglycerol* (DAG) – protein kinase C (PKC) dan NADPH-oksidadase yang menyebabkan timbulnya *Reactive Oxygen Species* (ROS). Proses *signaling* ini mendapatkan perhatian untuk kontrol dari angiogenesis, stres oksidatif akibat ROS dan kematian selular. Saat ini ROS ditemukan diinduksi oleh hiperglikemia pada pasien diabetes melalui berbagai enzim pada respirasi di mitokondria, *xanthine oxidases*, *lipoxigenases*,

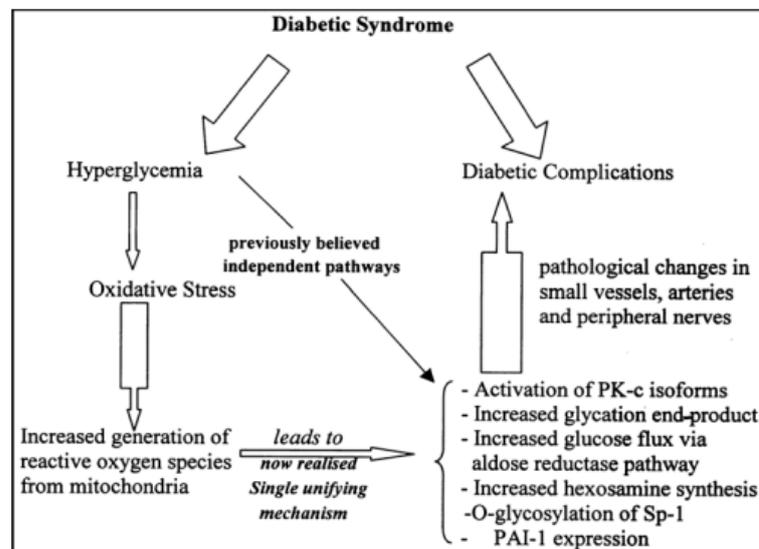
cyclooxygenases, sintesis *nitric oxide* (NO) dan peroksidase. (Volpe *et al.*, 2018)

Peningkatan produksi ROS yang mengakibatkan stres oksidatif dapat menimbulkan aktivasi apoptosis pada sel beta-pankreas. Selanjutnya, apoptosis dan necroptosis memiliki peran penting pada progresi komplikasi diabetes dan membuat kerusakan jaringan jantung, retina, ginjal dan sistem saraf. Ketidakseimbangan antara autofagi dan apoptosis dapat menimbulkan progresi dari komplikasi diabetes. Autofagi dapat menyebabkan penurunan regulasi dari apoptosis. Jalur AKT pada apoptosis ditemukan menurun akibat peranan *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1). Aktivasi dari mTORC1 bergantung pada PKC. Sehingga, PKC, bersama dengan mTORC1, dapat menyebabkan autofagi selular dan inefisiensi dari aktivasi mTORC1 dapat menggambarkan penekanan autofagi. (Volpe *et al.*, 2018)

Sel-sel aerobik, termasuk beta pankreas, memproduksi ROS dalam bentuk anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dan H_2O_2 saat fosforilasi oksidatif di mitokondria sebagai *by products*. Anion superoksida yang merupakan molekul yang sangat reaktif kemudian dikonversikan menjadi H_2O_2 oleh isoenzim superoksida dismutase (SOD) dan menjadi oksigen dan air oleh enzim katalase (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx), dan *peroxiredoxin* (Prx). Namun, sel beta pankreas memiliki enzim antioksidatif yang rendah untuk melawan anion superoksida secara berkelanjutan, dimana hanya terdapat 50% SOD dan 5% H_2O_2 -*scavenging enzymes* GPx dan CAT dari jumlahnya di liver. Sehingga, sel beta pankreas menjadi sangat sensitif terhadap pensinyalan terkait ROS dan rawan terjadi stres oksidatif dan sitotoksitas. (Wang and Wang, 2017)

Di lain pihak, adanya asam lemak bebas yang berlebih atau kondisi hiperlipidemia juga dapat menyebabkan overproduksi ROS yang selanjutnya dapat mengakibatkan kerusakan DNA mitokondria dan malfungsi dari sel β pankreas yang semuanya akan berdampak pada munculnya stres oksidatif pada diabetes. Overproduksi ROS juga akan

merangsang oksidasi LDL (LDLox) yang tidak dapat dikenali oleh reseptor LDL, sehingga pada akhirnya akan menyebabkan plak aterosklerotik. Overproduksi ROS pada gilirannya juga dapat meningkatkan ekspresi NADPH oleh jalur PKC yang diinduksi oleh glukosa, pembentukan produk AGE, akumulasi sorbitol dan aktivasi NF- κ B yang menyebabkan munculnya disfungsi endotel pembuluh darah. Di lain pihak, ROS yang berlebihan juga dapat mengganggu aktivitas NOS endotel dan proses produksi NO, sehingga terjadi gangguan vasodilatasi pembuluh darah (Bajaj S & Khan A, 2012)



Gambar 5. Mekanisme stress oksidatif terhadap hiperglikemia (Tiwari, A.K & J.M. Rao, 2002)

Peningkatan kadar ROS akan merusak pankreas yang berhubungan dengan timbulnya diabetes tipe I. melalui apoptosis sel beta pankreas dan timbulnya diabetes tipe II melalui resistensi insulin. Dalam pengobatan diabetes baru-baru ini, α -amilase dan α -inhibitor glikosidase adalah obat yang paling dijamin karena meningkatkan kondisi hiperglikemik pasca-prandial. α -amilase dan α -glikosidase menjadi enzim kunci yang terlibat dalam pemecahan pati menjadi glukosa dan diyakini

bahwa penghambatan enzim ini dapat secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah postprandial dan oleh karena itu dapat menjadi strategi penting dalam pengelolaan hiperglikemia terkait diabetes tipe II (Kwon dkk., 2008).

2.3 Tikus Wistar

Tikus Wistar dengan nama latin *Rattus norvegicus* merupakan tikus yang ada di alam dan banyak digunakan pada eksperimen laboratorium dan dianggap sebagai mamalia pertama yang dilakukan domestikasi untuk keperluan penelitian. Secara umum, tikus penelitian dibagi menjadi 2 kelompok yaitu *inbred* dan *outbred*. Jenis *outbred* lebih banyak digunakan untuk penelitian secara umum, sementara jenis *inbred* merupakan jenis yang lebih baik digunakan pada studi genetik dan karakteristik fenotip. Tikus Wistar merupakan Tikus yang dikembangkan oleh The Wistar Institute, Philadelphia, Pennsylvania, USA tahun 1906 dengan warna bulu putih dan jenis *outbred*. (Modlinska and Pisula, 2020) Tikus Wistar dan Sprague-Dawley (SD) merupakan tikus standar untuk tipe eksperimen yang berhubungan dengan diet karena mudah menjadi obesitas dan terjadi resistensi insulin yang diinduksi dengan diet. (Buettner, Schölmerich and Bollheimer, 2007)

Sebagai hewan percobaan, data biologis tikus penting dalam membantu menyeragamkan hasil penelitian dunia medis. Berikut ini terdapat data biologis tikus putih (*Rattus sp.*), yaitu diantaranya:

Konsumsi pakan perhari : 5 gram/100 gram BB

Konsumsi air minum perhari : 8-11 mL/ 100 gram BB

Diet Protein : 12 %

Ekskresi Urin Perhari : 5,5 mL/ 100 gram BB

Lama hidup : 2,5-3 tahun

Bobot badan dewasa jantan : 300-400 gram

Bobot badan dewasa betina : 250-300 gram

Bobot lahir : 5-6 gram

Siklus estrus : 21 hari

Rasio Kawin : 1 jantan dengan 3 atau 4 betina

Jumlah kromosom : 42

Suhu rektal : 37,5⁰ C

Laju respirasi : 87 x/menit

Denyut jantung : 300-500x/ menit

Proses induksi diabetes melitus pada tikus Wistar dapat dilakukan dengan metode pemberian Streptozocin atau Alloxan. Alloxan diberikan dengan dosis 100-150 mg/kgBB secara intraperitoneum dan akan menyebabkan diabetes dalam 3 hari dengan merusak sel beta pankreas. Hasilnya, tikus Wistar yang diinduksi Alloxan memiliki kadar glukosa, konsumsi air dan makanan yang lebih tinggi dibandingkan tikus Wistar normal. Sebaliknya, kadar insulin dan *C-peptide* ditemukan lebih rendah pada tikus diabetes ini.(Akbarzadeh *et al.*, 2007).

2.4 Alloxan

Alloxan merupakan senyawa dengan nama kimia 5,5-dihydroxyl pyrimidine-2,4,6-trione, sebuah derivat dari urea, bersifat karsinogenik dan analog sitotoksik glukosa. Penginduksian diabetes dengan alloxan akan membuat sebuah *insulin-dependent diabetes mellitus* yang umumnya dilakukan pada hewan coba seperti kelinci, tikus, mencit, monyet, kucing dan anjing. Dosis yang paling umum digunakan adalah 150 mg/kgBB secara intraperitoneum. Dua efek patologis yang ditimbulkan dari alloxan adalah inhibisi selektif dari sekresi insulin yang distimulasi oleh glukosa (dengan penghambatan spesifik terhadap glukokinase) dan adanya nekrosis selektif pada sel beta pankreas akibat pembentukan ROS. Alloxan memiliki karakteristik kimia yang menyerupai glukosa dan merusak sel beta pankreas dengan cara masuk sel beta pankreas melalui GLUT2. Namun di samping itu, alloxan juga dapat masuk menyerupai glukosa melalui transporter lain selain GLUT2 sehingga dapat mengakibatkan efek toksik sistemik.(Ighodaro, Adeosun and Akinloye, 2017)

Alloxan menginduksi diabetes dengan adanya ketosis, toksisitas *Reactive Oxygen Species*, dan tingginya angka mortalitas. (Ighodaro, Adeosun and Akinloye, 2017). Diabetogen yang sering digunakan adalah alloxan karena dapat menghasilkan DM dalam waktu dua sampai tiga hari. Alloxan secara selektif merusak sel β pankreas dan menurunkan sensitifitas sel-sel yang memiliki reseptor insulin, seperti sel hati, sel otot, sel adiposa (Malaisse et al., 1982).

2.5 Daun Kersen (*Muntingia calabura*)

Muntingia calabura L. atau dikenal secara lokal dengan Kersen (Makassar), atau Talok (Jawa), atau Kerukup Siam (Malaysia) merupakan tanaman herbal pengobatan yang saat ini sedang banyak diteliti dalam efeknya sebagai antidiabetik, antinosiseptif, antiulkus dan antiinflamasi. Tanaman ini berasal dari Meksiko Selatan, namun banyak ditemukan juga di Asia Tenggara. (Mahmood *et al.*, 2014) Tanaman ini merupakan pohon yang dapat tumbuh cepat dengan ketinggian sekitar 7.5 – 12 meter. Daunnya abadi-hijau dengan ukuran sekitar 5 – 12.5 cm panjangnya dengan sisinya bergerigi tidak teratur. Daun Kersen (*Muntingia calabura*) banyak digunakan secara tradisional untuk penyakit infeksi dan non-infeksi. (Mahmood *et al.*, 2014)



Gambar 6. Tanaman *Muntingia calabura* (Kersen). a. Pohon; b. Daun; c. Bunga; d. Buah (Mahmood et al., 2014)

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, tanaman kersen diklasifikasikan sebagai berikut. (Sari,2012)

- Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
- Sub kingdom : *Tracheobionta* (berpembuluh)
- Super divisi : *Spermatophyta* (berbiji)
- Divisi : *Magnoliophyta* (berbunga)
- Kelas : *Magnoliopsida* (berkeping dua / dikotil)
- Sub kelas : *Dilleniidae*
- Bangsa : *Malvales* (Culumniferae)
- Suku : *Elaeocarpaceae*
- Marga : *Muntingia*

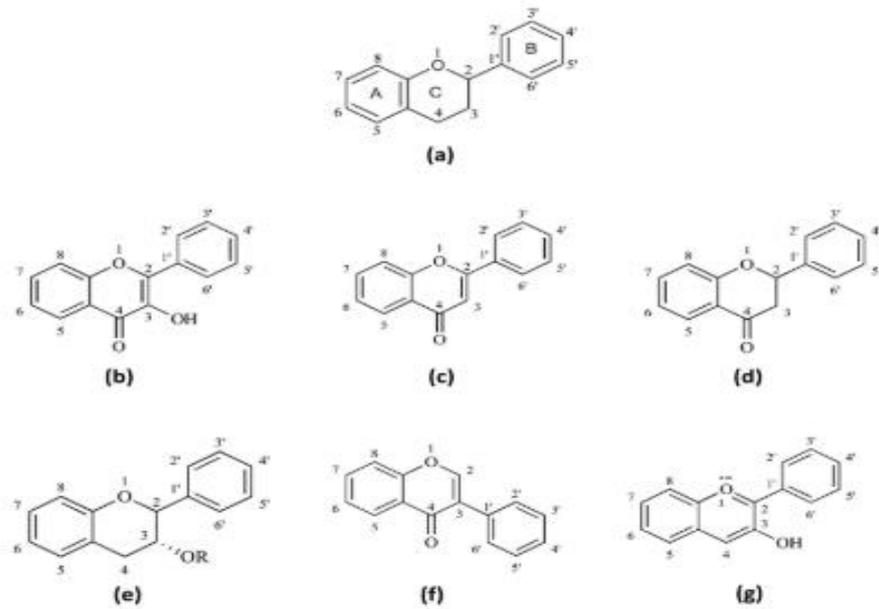
Jenis : *Muntingia calabura L.*

2.5.1 Kandungan Daun Kersen

Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) mengandung alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid dan tannin. Fenolik dan flavonoid merupakan komponen yang memiliki aktivitas antioksidan. Dan total dari kedua komponen ini berhubungan dengan aktivitas antioksidan yang diukur dengan cara pengukuran radikal bebas dengan cara 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) secara *in vitro*. (Puspitasari and Wulandari, 2017) Lebih lanjut lagi, ekstrak etanol dari daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) memiliki efek antioksidan terkuat dibandingkan dengan tanaman lain seperti *Syzygium cumini* (Jamblang), *Ocimum basilicum* (Selasih) dan *Eleutherine bulbosa* (Bawang Dayak). (Haerani, Chaerunisa and Subarnas, 2019)

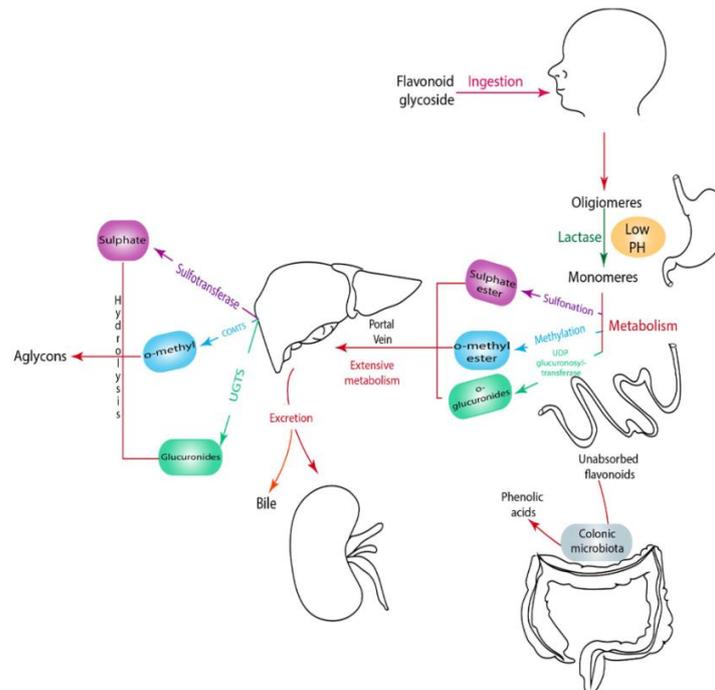
- Flavonoid

Flavonoid mewakili kelas polifenol terbesar, yang merupakan senyawa bioaktif turunan tumbuhan paling melimpah. Struktur kimia flavonoid memiliki struktur C6 – C3 – C6 yang khas. Secara khusus, terdiri dari dua cincin aromatik (juga disebut cincin A dan B) yang dihubungkan oleh rantai tiga karbon, menghasilkan heterosiklus teroksigenasi (cincin C). (Farzaei *et al.*, 2019) Berdasarkan struktur heterosiklusnya, Flavonoid, dibagi dalam subclass yang berbeda: flavonol (quercetin dan kaempferol), flavon (luteolin dan apigenin), flavanol (katekin dan proantosianidin), antosianidin, flavanon (naringenin dan hespertin), dan isoflavon (genistein dan daidzein), banyak terdapat di sebagian besar tanaman (Gambar 6). (Peluso, Raguzzini and Serafini, 2013)



Gambar 7. Struktur Kimia Flavonoid. Struktur dari (a) rangka flavonoid dasar; (b) flavonols; (c) flavones; (d) flavanones; (e) flavanols; (f) isoflavones and (g) anthocyanidins. (Leyva-López et al., 2016)

Flavonoid terkandung dalam daun Kersen ditemukan banyak memiliki manfaat, salah satunya sebagai antidiabetik. Secara umum, glikosida dari flavonoid memasuki badan melalui oral dan dicerna secara enzimatik pada lambung sehingga memecah flavonoid menjadi molekul yang lebih sederhana. Pada usus kecil, konjugasi flavonoid terjadi saat beberapa reaksi terjadi seperti sulfasi dan metilasi, membuat adanya *o-glucoronides*, *o-methyl ester*, dan *sulfate ester*. Konjugasi kedua dari flavonoid terjadi di hepar untuk memproduksi turunan sulfat dan glukoronida yang dapat diekskresikan pada empedu dan urin. Flavonoid yang tidak diserap tubuh akan masuk ke kolon untuk dilakukan hidrolisis dan difermentasi menjadi komponen molekular yang bisa diserap. (Al-Ishaq et al., 2019)



Gambar 8. Metabolisme Flavonoid pada Tubuh Manusia (Al-Ishaq et al., 2019)

- Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi dan mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satu atau 2 atom nitrogen. Alkaloid sering beracun bagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga sering digunakan untuk pengobatan. Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid (Harborne, 1987).

Alkaloid tidak mempunyai tata nama sistematis, oleh karena itu, suatu alkaloid dinyatakan dengan nama trivial yang berakhiran –in. Fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum diketahui secara pasti. Namun alkaloid berfungsi sebagai pengatur tumbuh atau penghalau dan penarik serangga. Alkaloid merupakan kelompok senyawa yang mengandung nitrogen dalam bentuk gugus fungsi amin. Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan

sekunder yang besar. Pada umumnya, alkaloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom N sebagai bagian dalam surem siklik. Alkaloid berperan sebagai obat antinyeri, antiparasit, anestesi local dan antioksidan. (Harborne, 1987 & Soni et al., 2014).

- Saponin

Saponin merupakan glikosida alami yang terikat dengan steroid alkaloid atau triterpena. Saponin mempunyai aktivitas farmakologi yang cukup luas seperti imunomodulator, antitumor, antiinflamasi, antivirus, antijamur, efek hipoglikemik, dan efek hipokolesterol. Saponin juga mempunyai sifat yang beragam seperti terasa manis, pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dan dapat menyebabkan haemolisis (Robinson, 1995)

- Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty et al., 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002).

- Polifenol

Polifenol memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus hidroksil dalam molekulnya. Zat ini juga dikenal dengan nama *soluble tanin*, merupakan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun, biji dan buah dari tumbuhan tingkat tinggi yang bersifat antioksidan kuat. Polifenol secara alami dapat ditemukan dalam sayuran, buah, kacang, minyak zaitun, dan minuman (Nawaekasari, 2012).

2.5.2 Manfaat Daun Kersen

Kersen merupakan salah satu jenis dari marga *Muntingia* yang tumbuh selalu hijau sepanjang tahun. Tumbuhan ini kaya senyawa flavonoid dengan jenis flavon, flavonon, flavan dan biflavon sebagai kandungan yang penting. Salah satu manfaat dari kandungan flavonoid adalah sebagai antioksidan dan berkhasiat mengobati penyakit seperti diabetes, asam urat, kolesterol tinggi, dll.. Aktivasinya telah banyak diteliti bahwa flavonoid memiliki kemampuan untuk mengubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas. Selain itu juga memiliki kemampuan prooksidan tergantung dari konsentrasi dan sumber radikal bebasnya. Flavonoid berguna sebagai antioksidan melawan radikal bebas tetapi dapat juga berperan sebagai prooksidan jika digunakan pada logam transisi. (Binawati & Amillah, 2013)

2.6 Efek Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Reactive Oxygen Species(ROS)

Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuannya sebagai zat antioksidan. Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel β sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Antioksidan dapat menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pankreas. Antioksidan dapat mengikat radikal bebas yang telah dibuktikan dalam penelitian ruhe et al.,2015 sehingga dapat mengurangi resistensi insulin. Antioksidan dapat menurunkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Dalam pembentukan ROS, oksigen akan berikatan dengan elektron bebas yang keluar karena bocornya rantai elektron. Reaksi antara oksigen dan elektron bebas inilah yang menghasilkan ROS dalam mitokondria. Antioksidan pada flavonoid dapat menyumbangkan atom hidrogennya. Flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil.

Penurunan kadar ROS intraseluler pada penelitian yang dilakukan oleh Aulia Nur dengan menggunakan ekstrak daun Kersen diduga

merupakan pengaruh dari senyawa fenol khususnya flavonoid yang dapat berperan langsung dan mengembalikan keseimbangan sistem antioksidan endogen sel fibroblas. Mekanisme MLME (*M. Calbura* Methanol Ekstrak) dalam menurunkan ROS intraseluler masih belum dapat dijelaskan melalui penelitian ini (Aulia Nur R, et all; 2018)

Mekanisme lain adalah kemampuan flavonoid terutama quercetin dalam menghambat GLUT 2 mukosa usus sehingga dapat menurunkan absorpsi glukosa. Hal ini menyebabkan pengurangan penyerapan glukosa dan fruktosa dari usus sehingga kadar glukosa darah turun. GLUT 2 diduga merupakan transporter mayor glukosa di usus pada kondisi normal. Pada penelitian yang dilakukan Song didapatkan bahwa flavonoid dapat menghambat penyerapan glukosa. Ketika quercetin yang tertelan dengan glukosa, hiperglikemia secara signifikan menurun. Hal ini menunjukkan bahwa quercetin dapat menghambat penyerapan glukosa melalui GLUT 2. Flavonoid juga dapat menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas. Peningkatan cAMP akan menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang sekresi insulin semakin meningkat (Ajie 2015).

Menurut Sridhar et al. (2011) menyatakan bahwa ekstrak metanol daun kersen memiliki efek antidiabetes pada mencit normal dan yang diinduksi aloksan. Siddique dkk. (2010) melakukan uji pemulungan radikal DPPH dari ekstrak metanol daun dari *Muntingia calabura*. Dari penelitian tersebut, penulis melaporkan bahwa dari ekstrak metanol, aktivitas pembersihan radikal dinilai menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat dan asam tanat sebagai standar kalibrasi, ditemukan masing-masing (0,903 dan 2,900). Zakaria dkk (2011), mengolah ekstrak daun yang berbeda (ekstrak encer, ekstrak kloroform dan metanol) pada berbagai konsentrasi yaitu 20, 100 dan 500. μ g / ml, dan diuji menggunakan uji pembersih radikal anion radikal DPPH dan superoksida. Metanol menggunakan aktivitas pemulungan radikal berkisar antara 92,1-99,9% diikuti oleh (30,7 - 94,9 persentase) ekstrak encer dan kloroform

(27,2-99,9%) sedangkan dalam pengujian terakhir Metanol, ekstrak air dan kloroform menunjukkan aktivitas pemulungan radikal berkisar antara 85.7 - 89.0%, 79.8 - 77.9% dan 60.0-87.2%, masing-masing (Nirmala et al, 2020).

Ekstrak metanol daun kersen mengandung total fenol sebesar 0,903 $\mu\text{g/mL}$ dengan pembanding asam galat dan 2,9 $\mu\text{g/mL}$ dengan pembanding asam tanat (Siddiqua, 2010). Kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun kersen dengan metode maserasi sebesar 0,216% b/b dan metode sokletasi sebesar 0,216% b/b dengan pembanding kuersetin (Puspitasari and Prayogo, 2016). Kadar fenolik total dan flavonoid total berkorelasi positif terhadap aktivitas antioksidan (Nirmala et al, 2020)

Peningkatan kadar ROS akan merusak pankreas yang berhubungan dengan timbulnya diabetes tipe I. melalui apoptosis sel beta pankreas dan timbulnya diabetes tipe II melalui resistensi insulin. Dalam pengobatan diabetes baru-baru ini, α -amilase dan α -inhibitor glikosidase adalah obat yang paling dijamin karena meningkatkan kondisi hiperglikemik pasca-prandial. α -amilase dan α -glikosidase menjadi enzim kunci yang terlibat dalam pemecahan pati menjadi glukosa dan diyakini bahwa penghambatan enzim ini dapat secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah postprandial dan oleh karena itu dapat menjadi strategi penting dalam pengelolaan hiperglikemia terkait diabetes tipe II (Nirmala et al, 2020).

Saponin ini berfungsi sebagai antidiabetes karena bersifat inhibitor enzim α -glukosidase. Enzim ini dapat di temukan pada usus halus dan memiliki fungsi mengubah karbohidrat menjadi glukosa. Dengan demikian, apabila enzim α -glukosidase dihambat kerjanya, maka kadar glukosa darah dalam tubuh akan menurun, sehingga menimbulkan efek hipoglikemik (Fiana et al. 2016).

Pemberian antioksidan juga terbukti dapat menurunkan kadar malondealdehid (MDA). Antioksidan dapat menurunkan MDA dengan cara langsung dan tidak langsung, secara langsung yaitu dengan cara

menangkap ROS dan mekanisme tidak langsung dengan menginduksi enzim antioksidan, menghambat enzim prooksidan, dan menghasilkan enzim detoksifikasi fase II dan enzim antioksidan. (Situmorang, Utara and Utara, 2020).

Malondialdehid merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas dengan rumus $C_3H_4O_2$. Malondialdehyde dapat dijadikan menjadi salah satu indikator yang paling sering digunakan pada peroksidasi lemak. Sanchez (2008) memperkuat pernyataan tersebut dengan menyatakan bahwa mediator MDA merupakan suatu produk akhir peroksidasi lemak yang digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lemak serta dapat menggambarkan derajat stres oksidatif. Kerusakan sel organ terjadi pada asam lemak tak jenuh fosfolipid membran sel, sehingga terbentuk peroksida lipid. Pada akhir rangkaian degradasi peroksida lipid akan menghasilkan etana, pentana dan MDA. Malondialdehyde ini dapat dijadikan sebagai indikator peningkatan peroksida lipid yang terbentuk akibat radikal bebas.

Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Lipid membran bilayer diketahui merupakan campuran fosfolipid dan glikolipid yang berikatan dengan asam lemak pada C1 dan C2 rantai gliserol. Tingkat maupun jenis reaksi oksidasi pada berbagai asam lemak akan berlainan. Perbedaan ini sangat bergantung pada jumlah dan posisi ikatan rangkap pada rantai asam lemaknya (Muchtadi 2013).

2.7 Efek Daun Kersen (*Muntingia calabura*) sebagai Agen Preventif pada Hiperglikemia

Belum ada penelitian yang meneliti tentang efek preventif daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Diabetes Mellitus. Penelitian lain menemukan bahwa flavonoid memiliki beberapa fitur yang berpotensi preventif terhadap terjadinya diabetes mellitus, antara lain:

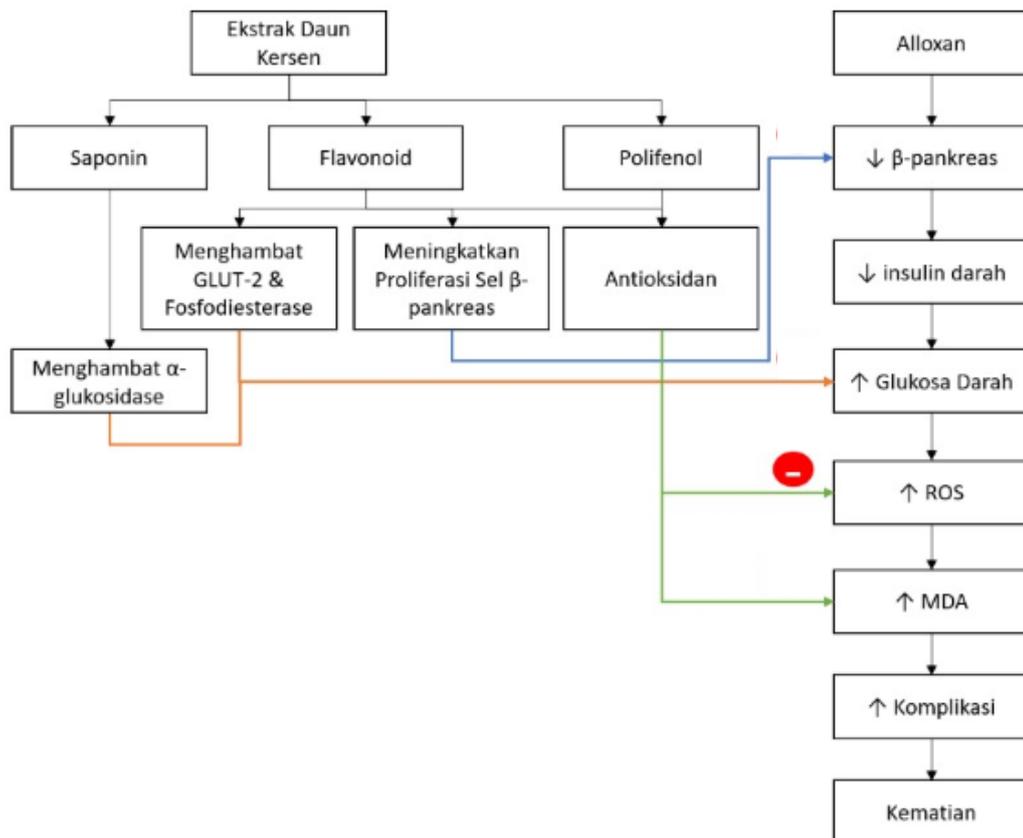
1. menurunkan glukosa darah post prandial dengan mengganggu enzim digestif dan/atau transporter glukosa (contoh: menghambat GLUT-2, SGLT1 dan α -glikosidase).
2. Meningkatkan pengambilan glukosa oleh jaringan perifer, baik melalui jalur insulin-dependen dan insulin-independen.(Alkhalidy, Wang and Liu, 2018).

Asupan diet yang tinggi flavonoid, seperti konsumsi teh ditemukan dapat menurunkan glukosa puasa dan risiko diabetes mellitus tipe 2.(Panagiotakos *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2014)

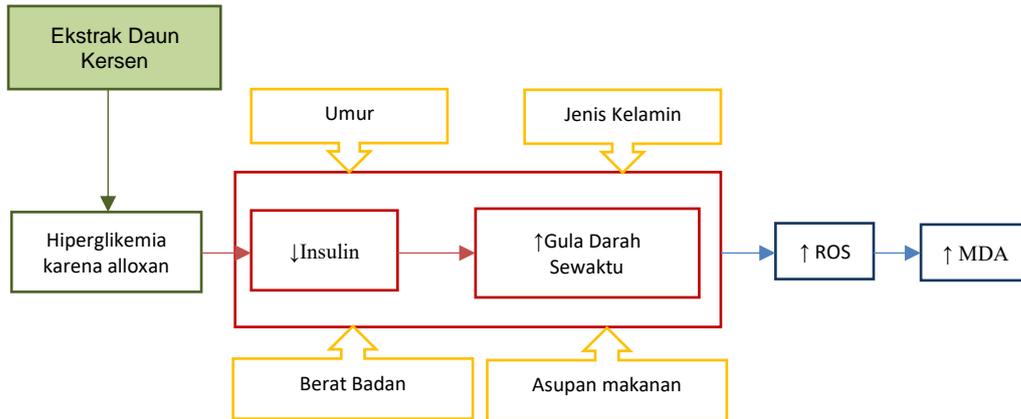
BAB III

KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



KETERANGAN

- = variabel bebas (independen)
- = variabel terikat (dependen)
- = variabel antara
- = variabel kontrol

3.3 Hipotesis

1. Terdapat penurunan kadar ROS pada tikus Wistar hiperglikemia yang diberikan ekstrak daun kersen dibandingkan dengan yang tidak diberikan ekstrak daun kersen.
2. Terdapat hubungan antara penurunan Kadar ROS dan MDA pada tikus Wistar yang diberikan ekstrak daun kersen dibandingkan yang tidak diberikan daun kersen.