



**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT TIKUS MODEL DIABETES YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya  
NIM 162010101002**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT TIKUS MODEL DIABETES YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

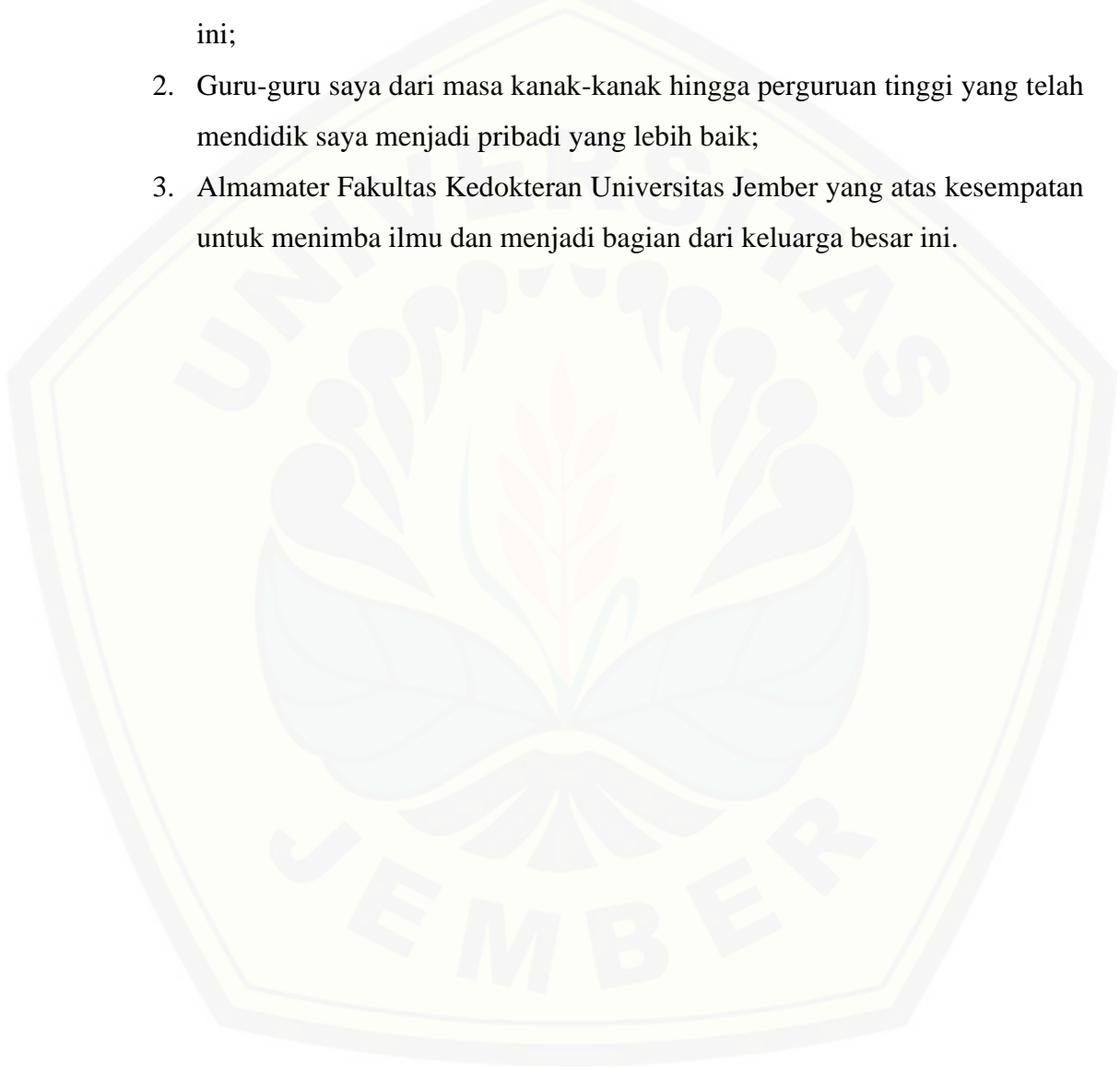
**Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya**  
**NIM 162010101002**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2020**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya, Papa Dede Susanto Tanuwijaya dan Mama Yenni Christina yang telah membesarkan, merawat, dan mendidik saya hingga saat ini;
2. Guru-guru saya dari masa kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah mendidik saya menjadi pribadi yang lebih baik;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang atas kesempatan untuk menimba ilmu dan menjadi bagian dari keluarga besar ini.



**MOTO**

“Aku melayangkan mataku ke gunung-gunung; dari manakah akan datang pertolonganku? Pertolonganku ialah dari TUHAN, yang menjadikan langit dan bumi. Ia takkan membiarkan kakimu goyah, Penjagamu tidak akan terlelap.”  
(Mazmur 121:1-3)<sup>\*)</sup>



---

<sup>\*)</sup> Lembaga Alkitab Indonesia. 2009. *Alkitab*. Cetakan Pertama. Jakarta: Percetakan Lembaga Alkitab Indonesia.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya

NIM : 162010101002

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Februari 2020

Yang menyatakan,

(Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya)

NIM 162010101002

**SKRIPSI**

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)  
TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT TIKUS  
MODEL DIABETES YANG DIINDUKSI  
STREPTOZOTOCIN**

Oleh

Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya  
162010101002

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Ali Santosa, Sp.PD

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Suryono, Sp.JP.FIHA

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin” karya Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Senin, 24 Februari 2020

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

**Tim penguji:**

Ketua,

Anggota I,

Dr. dr. Rini Riyanti, Sp.PK  
NIP. 19720328 199903 2 001

dr. Adelia Handoko, M.Si  
NIP. 19890107 201404 2 001

Anggota II,

Anggota III,

dr. Ali Santosa, Sp.PD  
NIP. 19590904 198701 1 001

dr. Suryono, Sp.JP.FIHA  
NIP. 19691011 200003 1 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA  
NIP. 19730424 199903 1 002

## RINGKASAN

**Efek Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Model Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin;** Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya; 162010101002; 2020; 78 halaman; Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyakit tidak menular menjadi penyebab utama kematian secara global. Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit tidak menular dengan angka kejadian yang tinggi. Kondisi hiperglikemia yang tidak terkontrol akan menyebabkan komplikasi ke hepar. Hiperglikemia akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat adanya peningkatan faktor-faktor transkripsi, seperti NF- $\kappa$ B dan EGR-1. ROS menyebabkan peroksidasi lipid membran sel dan mitokondria. Aldehid yang terbentuk akan mengurangi jumlah glutathion hepar dan meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, yaitu TNF- $\alpha$ . Akibatnya, terjadilah kematian hepatosit yang ditandai dengan peningkatan kadar SGOT dan SGPT.

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Kelor memiliki potensi sebagai sumber antioksidan karena kandungan flavonoidnya yang tinggi. Flavonoid merupakan pengikat ROS yang poten sehingga akan mencegah akumulasi ROS berlebihan dan memperbaiki DNA mitokondria. Hasilnya adalah perbaikan hepatosit sehingga peningkatan kadar SGOT dan SGPT dalam darah dapat dicegah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus model diabetes yang diinduksi streptozotocin.

Penelitian ini merupakan penelitian *quasi experimental* dengan desain penelitian *post test only control group design* yang dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Daun kelor diekstrak menggunakan teknik maserasi dengan etanol 96% selama 48 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas penyaring, dan residunya kembali dimaserasi selama 48 jam selanjutnya. Ekstrak kemudian dievaporasi hingga kental dan disimpan dalam lemari pendingin. Sampel penelitian merupakan tikus jantan albino (*Rattus norvegicus*) galur Wistar usia 2-3 bulan dengan berat badan 200-300 gram, yang didapatkan dari peternakan tikus di Malang sebanyak 28 ekor. Pemilihan dan pengelompokan sampel dilakukan dengan *simple random sampling*. Sampel dikelompokkan menjadi 7 kelompok, yaitu KN, KN-, K1, K2, K3, K4, dan K5. Setelah dilakukan aklimatisasi, pada hari ke-8, KN diinjeksi dengan 0,5 ml normal saline sementara KN-, K1, K2, K3, K4, dan K5 diinjeksi dengan streptozotocin 45 mg/kgBB secara intraperitoneal. Tiga hari kemudian, kadar glukosa darah puasa tikus diukur menggunakan glukometer. Setelah itu, KN dan KN- diberi normal saline 2 ml sementara K1, K2, K3, K4, dan K5 diberi ekstrak daun kelor dosis 62,5 mg/kgBB, 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1.000 mg/kgBB melalui sonde lambung selama 28 hari. Pada hari ke-39, seluruh sampel diterminasi dan diambil darahnya melalui pungsi jantung. Sampel darah di-*sentrifuge* hingga didapatkan serum kemudian dilakukan pengukuran kadar SGOT dan SGPT.



Dari penelitian didapatkan hasil kadar rata-rata SGOT pada kelompok KN, KN-, K1, K2, K3, K4, dan K5 berturut-turut yaitu  $36,43 \pm 3,57$  U/L,  $149,09 \pm 2,93$  U/L,  $109,40 \pm 4,70$  U/L,  $114,07 \pm 4,90$  U/L,  $86,67 \pm 7,40$  U/L,  $87,51 \pm 4,41$  U/L, dan  $65,02 \pm 10,28$  U/L. Sementara itu, rata-rata SGPT pada kelompok KN, KN-, K1, K2, K3, K4, dan K5 secara berurutan yaitu  $41,35 \pm 3,98$  U/L,  $78,53 \pm 8,43$  U/L,  $74,01 \pm 7,05$  U/L,  $69,36 \pm 5,48$  U/L,  $59,72 \pm 7,68$  U/L,  $53,76 \pm 3,64$  U/L, dan  $46,53 \pm 6,67$  U/L. Data yang diperoleh diuji menggunakan *One way* ANOVA dan *Post hoc* LSD. Uji *One way* ANOVA menunjukkan perbedaan antar kelompok yang signifikan pada SGOT ( $p=0,000$ ) dan SGPT ( $p=0,000$ ). Uji *Post hoc* LSD menunjukkan bahwa semua kelompok dosis mampu menurunkan kadar SGOT tikus secara signifikan, sedangkan kelompok yang mampu menurunkan kadar SGPT secara signifikan hanya kelompok K3, K4, dan K5. Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor berpengaruh terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus model diabetes yang diinduksi streptozotocin.



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus yang Diinduksi Streptozotocin” ini dengan baik. Skripsi ini diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Moh. Hasan, M.Sc., Ph.D selaku mantan Rektor Universitas Jember dan Dr. Ir. Iwan Taruna, M.Eng selaku Rektor Universitas Jember;
2. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
3. dr. Ali Santosa, Sp.PD selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Suryono, Sp.JP.FIHA selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
4. Dr. dr. Rini Riyanti, Sp.PK selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Adelia Handoko, M.Si selaku Dosen Penguji Anggota yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. dr. Rosita Dewi, M.Biotec yang telah dengan sabar dan rela hati mendukung serta memberikan masukan dan motivasi selama penyusunan skripsi ini;
6. Laboran Laboratorium Farmakologi FK Unej, Lilik Maslian, A.md., Laboratorium Patologi Klinik FK Unej, Sony Kristanti Ningrum, Amd., dan Laboratorium Biokimia FK Unej, Nurul Istinaroh, S.P. yang telah memberikan ijin dan bantuan selama penelitian;
7. Para staf dan civitas akademika di Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan banyak bantuan selama pendidikan;

8. Kedua orang tua penulis, Papa Dede Susanto Tanuwijaya dan Mama Yenni Christina yang selalu memberikan dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tak pernah putus;
9. Alexander Utut Prajitno yang selalu memberikan saran, masukan, dan dukungan moril dalam penulisan skripsi ini;
10. Sahabatku Shiwi Linggarjati, Virginia Viola Setiajiputri, Danang Tejamukti Widiatmaja, Dhiemas Trisyuananda Eniestama, Adiz Dwiputra Rahmadhan Amanullah, Muhammad Yuda Nugraha, Wahyu Rachmadi Akbar, dan Astuti Setyawardani atas kebersamaan dan dukungan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
11. Rekan-rekan penelitian Giovani Gianosa, Miranda Dewi, Athiyah Fi Ramadhani, Rizky Trisepta Multazam, dan Ni Luh Putu Dinda Rahayu Dermansya yang telah memberikan semangat dan motivasi selama penelitian;
12. Saudara-saudari seiman UKMCK FK Unej atas dukungan dan doa selama penyusunan skripsi ini;
13. Keluarga besar Vox Medici dan CIMSA FK Unej atas dukungan dalam penyusunan skripsi ini
14. Teman-teman angkatan 2016 yang sedang bersama-sama berjuang untuk mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
15. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan karya tulis ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga karya tulis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan khususnya untuk perkembangan Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Jember, 24 Februari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis .....	4
1.4.2 Manfaat Aplikatif .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Diabetes Melitus</b> .....	5
2.1.1 Definisi .....	5
2.1.2 Epidemiologi .....	5
2.1.3 Klasifikasi .....	5
2.1.4 Faktor Risiko .....	6
2.1.5 Patofisiologi .....	7
2.1.6 Gejala .....	11
2.1.7 Diagnosis .....	11
2.1.8 Komplikasi .....	12
<b>2.2 SGOT dan SGPT</b> .....	13
2.2.1 SGOT dan SGPT sebagai Penanda <i>Hepatocellular Injury</i> .....	13
2.2.2 Kadar SGOT dan SGPT pada penderita DM tipe-2 .....	14
<b>2.3 Streptozotocin</b> .....	14
2.3.1 Defisini dan Sifat Kimia .....	14
2.3.2 Mekanisme Kerja .....	15
2.3.3 Solubilitas dan Stabilitas .....	16
2.3.4 Rute dan Dosis Administrasi .....	16

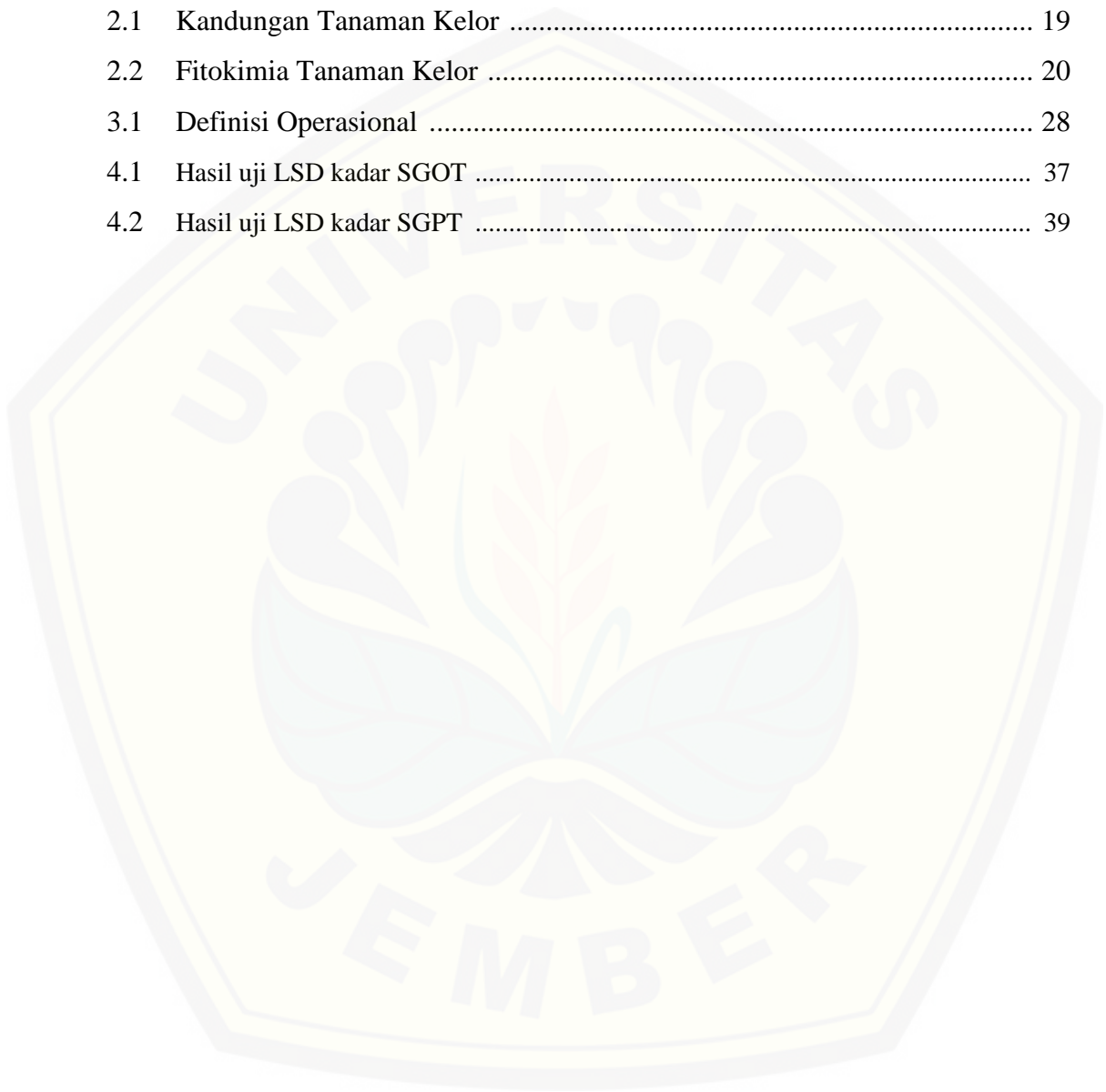
2.4	<b>Kelor</b> .....	16
2.4.1	Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kelor .....	16
2.4.2	Kandungan Tanaman Kelor .....	18
2.4.3	Penggunaan Tanaman Kelor di Masyarakat .....	21
2.4.4	Farmakologi Daun Kelor sebagai Agen Hepatoprotektor .....	21
2.5	<b>Kerangka Konseptual</b> .....	23
2.6	<b>Hipotesis</b> .....	24
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....		25
3.1	<b>Jenis Penelitian</b> .....	25
3.2	<b>Rancangan Penelitian</b> .....	25
3.3	<b>Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	26
3.4	<b>Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	26
3.4.1	Sampel Penelitian .....	26
3.4.2	Jumlah Sampel .....	26
3.4.3	Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	27
3.5	<b>Variabel Penelitian</b> .....	28
3.5.1	Variabel Bebas .....	28
3.5.2	Variabel Terikat .....	28
3.5.3	Variabel Terkendali .....	28
3.6	<b>Definisi Operasional</b> .....	28
3.7	<b>Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	29
3.7.1	Alat Penelitian .....	29
3.7.2	Bahan Penelitian .....	29
3.8	<b>Prosedur Penelitian</b> .....	29
3.8.1	Pembuatan Ekstrak Daun Kelor .....	29
3.8.2	Pengenceran Ekstrak Daun Kelor .....	30
3.8.3	Penentuan Dosis .....	30
3.8.4	Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba .....	30
3.8.5	Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian .....	31
3.8.6	Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT Tikus .....	31
3.8.7	Penerapan Prinsip 3R ( <i>Replacement, Reduction,</i> <i>Refinement</i> ) .....	32
3.8.8	Penerapan Prinsip 5F ( <i>Freedom</i> ) .....	33
3.9	<b>Analisis Data</b> .....	34
3.10	<b>Uji Kelayakan Etik</b> .....	34
3.11	<b>Alur Penelitian</b> .....	35
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....		36
4.1	<b>Hasil Penelitian</b> .....	36
4.1.1	Hasil Pemeriksaan Kadar SGOT .....	36
4.1.2	Analisis Kadar SGOT Tikus .....	36
4.1.3	Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT .....	37
4.1.4	Analisis Kadar SGPT Tikus .....	38
4.2	<b>Pembahasan</b> .....	39
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....		44

5.1 Kesimpulan .....	44
5.2 Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>53</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan Tanaman Kelor .....	19
2.2 Fitokimia Tanaman Kelor .....	20
3.1 Definisi Operasional .....	28
4.1 Hasil uji LSD kadar SGOT .....	37
4.2 Hasil uji LSD kadar SGPT .....	39



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Mekanisme Peningkatan AGE pada Hiperglikemia .....	9
2.2 Mekanisme ROS Menginduksi Gangguan Hepar .....	10
2.3 Mekanisme Reaksi Transaminasi .....	13
2.4 Struktur Kimia Streptozotocin .....	15
2.5 Tanaman Kelor .....	17
2.6 Kerangka Konseptual .....	23
3.1 Skema Rancangan Penelitian .....	25
3.2 Alur Penelitian .....	35
4.1 Histogram Rata-rata Kadar SGOT .....	36
4.2 Histogram Rata-rata Kadar SGPT .....	38



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Perhitungan Pengenceran Ekstrak Daun Kelor .....	53
3.2 SOP Pemeliharaan Hewan Coba .....	55
3.3 SOP Penyondean Hewan Coba .....	56
3.4 SOP Induksi Streptozotocin pada Hewan Coba .....	57
3.5 SOP Pemeriksaan Glukosa Darah Hewan Coba .....	58
3.6 SOP Pungsi Jantung, Terminasi, dan Pemusnahan Hewan Coba .....	59
3.7 SOP Pemeriksaan SGOT dan SGPT Hewan Coba .....	60
3.8 Delegations of Duty .....	61
3.9 Tabel Dosis Streptozotocin .....	62
3.10 Tabel Dosis Pemberian Ekstrak Daun Kelor .....	63
3.11 Dokumentasi Penelitian .....	64
3.12 Keterangan Persetujuan Etik .....	66
3.13 Hasil Determinasi Spesies Tanaman .....	69
3.14 Rekomendasi Bebas Plagiasi .....	70
4.1 Hasil Pemeriksaan Kadar SGOT Tikus .....	71
4.2 Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT Tikus .....	72
4.3 Hasil Analisis Statistik .....	73

**DAFTAR SINGKATAN**

ADA	= <i>American Diabetes Association</i>
AGE	= <i>Advanced Glycation End-products</i>
AIDS	= <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ALP	= <i>Alkaline Phosphatase</i>
ALT	= <i>Alanine aminotransferase</i>
AMPK	= <i>Adenosine Mono Phosphate Kinase</i>
ASI	= <i>Air Susu Ibu</i>
AST	= <i>Aspartate aminotransferase</i>
ATP	= <i>Adenosine Tri Phosphate</i>
CCl <sub>4</sub>	= <i>Carbon Tetrachloride</i>
CD68	= <i>Cluster of Differentiation 68</i>
cGMP	= <i>cyclic Guanosine Monophosphate</i>
CVD	= <i>Cardiovascular Disease</i>
DGAT	= <i>Diacyl Glycerol Transferase</i>
DM	= <i>Diabetes Melitus</i>
DNA	= <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EGR-1	= <i>Early Growth Response protein 1</i>
ERK	= <i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
FAS	= <i>Fatty Acid Synthase</i>
GDPT	= <i>Glukosa Darah Puasa Terganggu</i>
GGT	= <i>Gamma Glutamil Transpeptidase</i>
GLUT	= <i>Glucose transporters</i>
GSH	= <i>Glutation</i>
HbA1c	= <i>Hemoglobin A1c</i>
HIV	= <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IDF	= <i>International Diabetes Federation</i>
IFCC	= <i>International Federation of Clinical Chemistry</i>
IL-6	= <i>Interleukin-6</i>

JAK	= <i>Janus Kinase</i>
JNK	= <i>c-Jun-N-terminal-kinase</i>
LDH	= <i>Laktat Dehidrogenase</i>
LXR- $\alpha$	= <i>Liver X Receptor-alpha</i>
MAPK	= <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	= <i>Malonaldehid</i>
MODY	= <i>Maturity-Onset Diabetes of the Young</i>
NAD <sup>+</sup>	= <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
NADPH	= <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NAFLD	= <i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NF- $\kappa$ B	= <i>Nuclear Factor-<math>\kappa</math>B</i>
NGSP	= <i>National Glycohaemoglobin Standarization Program</i>
NO	= <i>Nitrit Oksida</i>
PGC-1 $\alpha$	= <i>Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator-1 alpha</i>
PI3K	= <i>Phosphoinositide-3-kinase</i>
PKC	= <i>Protein Kinase C</i>
PPAR	= <i>Peroxisome Proliferator Activator Receptor</i>
RAGE	= <i>Reseptor Advanced Glycation End-products</i>
RNA	= <i>Ribonucleic Acid</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
SGOT	= <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	= <i>Serum Glutamic Piruvic Transaminase</i>
SRBP1c	= <i>Sterol Regulatory Binding Protein 1c</i>
STAT	= <i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i>
TGT	= <i>Toleransi Glukosa Terganggu</i>
TNF- $\alpha$	= <i>Tumor Necrotic Factor-alpha</i>
TTGO	= <i>Tes Toleransi Glukosa Oral</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit tidak menular saat ini menjadi penyebab utama kematian secara global. *World Health Organization* (WHO) tahun 2018 menyatakan bahwa 71% dari 57 juta kematian di seluruh dunia selama tahun 2016 disebabkan oleh penyakit tidak menular. Penyakit tidak menular utama yang terlibat antara lain penyakit kardiovaskular (44%), kanker (22%), penyakit pernapasan kronis (9%), dan diabetes (4%). Diperkirakan pada tahun 2030, jumlah morbiditas akibat penyakit tidak menular dan kecelakaan akan meningkat sementara angka morbiditas akibat penyakit menular akan menurun (Kemenkes RI, 2012).

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit tidak menular dengan angka kejadian yang tinggi. *World Health Organization* memperkirakan pada tahun 2030, Indonesia akan menempati posisi ke-4 negara dengan penderita DM terbanyak (sebesar 21,3% per juta penduduk). Jawa Timur, menurut hasil Riskesdas Badan Litbangkes 2018 menempati urutan ke-5 provinsi dengan prevalensi DM tertinggi di Indonesia, yaitu sebesar 2,6% (Kemenkes RI, 2018). Lebih spesifik, berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Kabupaten Jember tahun 2016 dan 2017, sebanyak 3.447 kasus baru DM ditemukan di sepanjang tahun 2016; sementara di tahun 2017, tercatat total kunjungan DM sebesar 7.149 pasien dengan jumlah kasus baru sebanyak 2.424 kasus.

Diabetes melitus adalah penyakit kronis serius yang terjadi karena pankreas tidak menghasilkan insulin dalam jumlah yang cukup atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang dihasilkannya secara efektif, atau keduanya (WHO, 2018). Kondisi hiperglikemia yang tidak terkontrol akan menyebabkan komplikasi ke berbagai organ tubuh, salah satunya hepar. Penelitian menunjukkan bahwa DM dikaitkan dengan sejumlah kelainan hepar, seperti peningkatan enzim hati abnormal, pengendapan glikogen abnormal, penyakit perlemakan hati non-alkohol (*Non-Alcoholic Fatty Liver Disease/NAFLD*), fibrosis, sirosis, *hepatocellular carcinoma*, dan gagal hepar akut (Mohamed *et al.*, 2016). Hasil meta-analisis yang dilakukan oleh Dai *et al.* (2017) menyatakan bahwa prevalensi NAFLD pada pasien

DM tipe-2 sebesar 59,67%. Penelitian juga membuktikan bahwa pada pasien DM, angka kematian akibat penyakit hepar stadium akhir, yaitu sirosis, lebih tinggi dibandingkan dengan angka kematian yang diakibatkan oleh penyakit kardiovaskular (Zhang *et al.*, 2012).

Hiperglikemia akan memicu peningkatan glikolisis, glukoneogenesis, dan lipolisis. Akibatnya, produksi asam lemak bebas akan meningkat. Akumulasi asam lemak bebas yang berlebihan di dalam hepatosit menginduksi peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang akan menyebabkan terjadinya disrupsi membran sel hepar (Ghimire *et al.*, 2018). Selain itu, peningkatan adipokin seperti leptin dan *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) akan mengaktifkan sel stelata hepar dan menginduksi peningkatan produksi kolagen, faktor pertumbuhan jaringan ikat, serta matriks ekstraseluler yang akan menyebabkan terjadinya fibrosis dan sirosis (Li *et al.*, 2019).

Salah satu indikator yang biasa digunakan untuk penegakan diagnosis gangguan fungsi hepar adalah pemeriksaan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT). Enzim SGOT dan SGPT terkandung di dalam hepatosit. Ketika terjadi kerusakan hepar, hepatosit akan mengeluarkan kedua enzim ini ke dalam plasma sehingga terjadi peningkatan kadar enzim dalam darah (Reza dan Rachmawati, 2017).

Pengobatan penyakit tidak menular dengan tanaman herbal banyak digunakan di Indonesia, salah satunya dengan tanaman kelor (*Moringa oleifera*). Tanaman ini dikenal sebagai *miracle tree* karena hampir setiap bagiannya dapat digunakan sebagai tanaman obat. Kelor diketahui memiliki efek antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, antikanker, kardioprotektif, hepatoprotektif, antiulkus, dan sebagainya. Selain itu, kelor juga mengandung berbagai macam protein, vitamin, lemak, antioksidan, dan senyawa mikro maupun makro mineral (Alethea dan Ramadhian, 2015).

Sampai saat ini, diyakini bahwa kelor dapat digunakan dalam terapi DM dan komplikasinya, termasuk komplikasi ke hepar. Penelitian oleh Stevens *et al.* (2013) di Nigeria menyatakan bahwa 65,2% responden memanfaatkan daun kelor untuk menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian ini didukung oleh penelitian yang

dilakukan oleh Kumari (2010) yang meneliti efek hipoglikemik daun kelor pada pasien DM tipe-2. Hasilnya, daun kelor terbukti menurunkan kadar glukosa darah puasa dan post-prandial pada pasien DM tipe-2 secara signifikan. Penelitian yang dilakukan oleh Omodanisi *et al.* (2017) juga membuktikan bahwa daun kelor memiliki efek hepatoprotektif yang signifikan.

Kelor memiliki potensi sebagai sumber antioksidan karena kandungan flavonoidnya yang tinggi. Flavonoid merupakan antioksidan yang kuat dan berperan penting dalam pencegahan serta pengobatan stres oksidatif dan inflamasi. Secara khusus, flavonoid menunjukkan efek hepatoprotektif dengan meningkatkan oksidasi asam lemak dan modulasi resistensi insulin, stres oksidatif, serta inflamasi (Abenavoli *et al.*, 2017). Namun, belum banyak penelitian yang membuktikan secara ilmiah mengenai manfaat daun kelor dalam memperbaiki gangguan fungsi hepar. Atas dasar tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti efek hepatoprotektif daun kelor pada gangguan fungsi hepar yang diakibatkan oleh komplikasi DM, melalui hewan coba tikus yang diinduksi streptozotocin.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka permasalahan yang dapat dirumuskan, yaitu “Bagaimanakah efek pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus model diabetes yang diinduksi streptozotocin?”

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus model diabetes yang diinduksi streptozotocin.

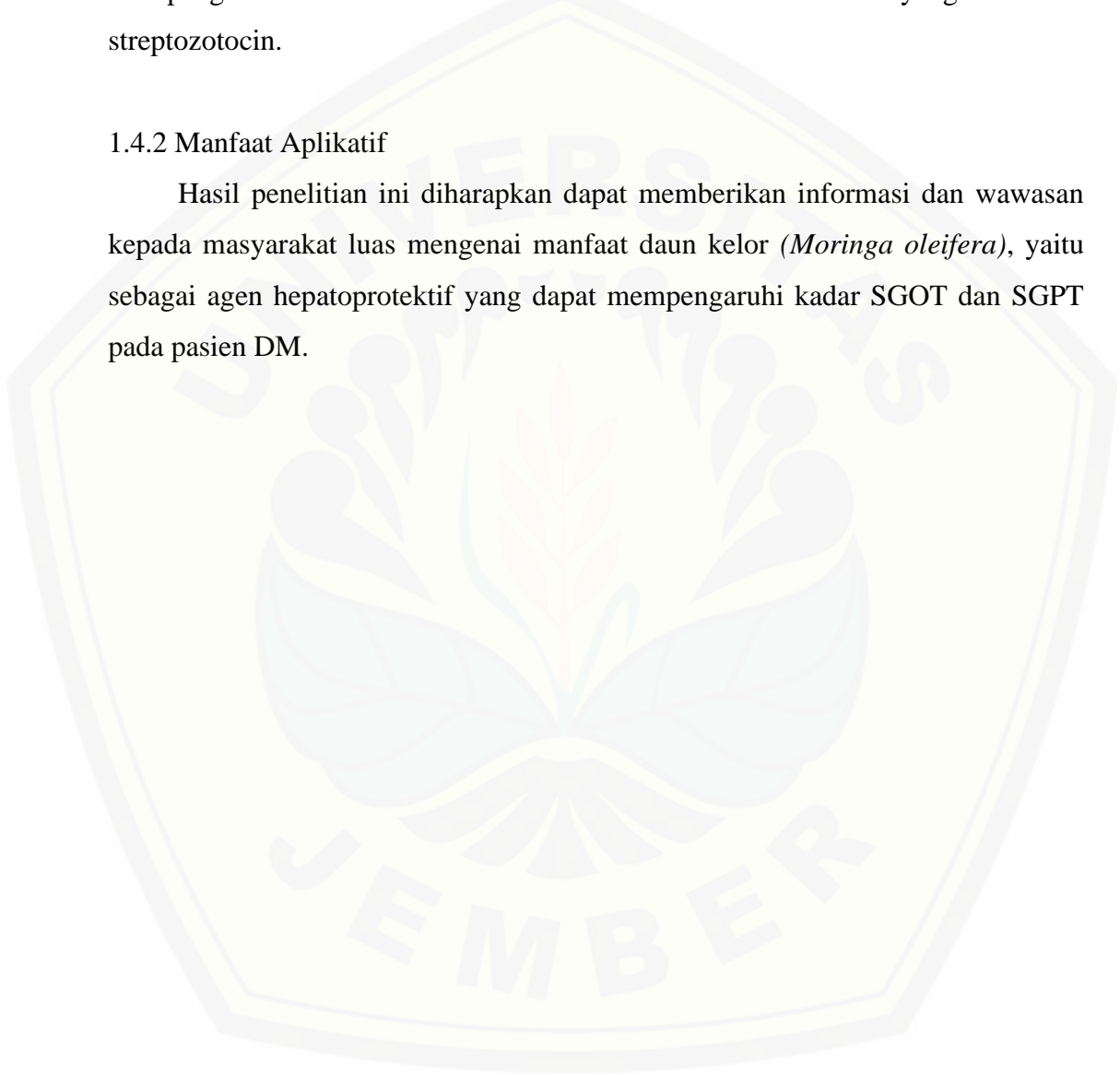
## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan menambah rujukan informasi ilmiah mengenai potensi hepatoprotektif ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam mempengaruhi kadar SGOT dan SGPT tikus model diabetes yang diinduksi streptozotocin.

### 1.4.2 Manfaat Aplikatif

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan kepada masyarakat luas mengenai manfaat daun kelor (*Moringa oleifera*), yaitu sebagai agen hepatoprotektif yang dapat mempengaruhi kadar SGOT dan SGPT pada pasien DM.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Diabetes Melitus

#### 2.1.1 Definisi

Diabetes melitus adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya (PERKENI, 2015). Diabetes adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah yang menyebabkan kerusakan serius pada jantung, pembuluh darah, mata, ginjal, dan saraf (WHO, 2019).

#### 2.1.2 Epidemiologi

Secara global, diperkirakan 422 juta orang dewasa hidup dengan DM pada tahun 2014. Prevalensi penderita DM di dunia meningkat hampir dua kali lipat sejak tahun 1980, dari 4,7% menjadi 8,5% pada populasi orang dewasa. Selama beberapa dekade terakhir, prevalensi DM meningkat lebih cepat di negara berpenghasilan rendah dan menengah dibandingkan dengan negara berpenghasilan tinggi (Kemenkes RI, 2018).

Berdasarkan data *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2014, saat ini diperkirakan 9,1 juta orang penduduk Indonesia didiagnosis menderita DM. Dengan angka tersebut, Indonesia menduduki peringkat ke-5 di dunia, atau naik dua peringkat dibandingkan data IDF tahun 2013 yang menempati peringkat ke-7 di dunia dengan 7,6 juta orang penyandang DM (PERKENI, 2015).

#### 2.1.3 Klasifikasi

*The American Diabetes Association* (ADA) telah membuat klasifikasi DM berdasarkan etiologinya sebagai berikut (ADA, 2019):

- a. DM tipe-1 (disebabkan oleh destruksi sel- $\beta$  pankreas melalui proses autoimun dan menyebabkan berkurangnya jumlah insulin secara absolut).
- b. DM tipe-2 (disebabkan oleh berkurangnya sekresi insulin oleh sel- $\beta$  pankreas secara progresif akibat adanya resistensi insulin).



- c. DM gestasional (merupakan DM yang didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga yang terjadi akibat kehamilan).
- d. Diabetes yang disebabkan oleh hal lain, seperti sindrom diabetes monogenik (contoh: *neonatal diabetes mellitus* dan *maturity-onset diabetes of the young/ MODY*), penyakit pankreas eksokrin (contoh: fibrosis kistik dan pankreatitis), dan diabetes yang diinduksi obat (contoh: penggunaan glukokortikoid, terapi HIV/AIDS, atau setelah transplantasi organ).

#### 2.1.4 Faktor Risiko

Faktor risiko DM dikelompokkan menjadi faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi dan yang dapat dimodifikasi. Faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi antara lain:

- a. Genetik

Faktor genetik berperan penting dalam pengembangan DM tipe-2. Jika salah satu orang tuanya memiliki riwayat DM tipe-2, maka individu tersebut memiliki risiko sebesar 40%, dan akan meningkat sebesar 70% jika kedua orang tuanya menderita penyakit tersebut. Keturunan pertama dari individu dengan DM tipe-2 memiliki risiko tiga kali lebih besar dibandingkan dengan individu tanpa riwayat keluarga yang positif (Ali, 2013).

- b. Umur

Prevalensi DM meningkat seiring bertambahnya usia, dengan prevalensi puncak pada kelompok usia 65-74 tahun. Faktor utama yang menyebabkan hal ini yaitu karena penuaan menginduksi penurunan sensitivitas insulin dan berkurangnya kemampuan sel- $\beta$  pankreas dalam mengkompensasi terjadinya resistensi insulin. Sekresi insulin juga menurun secara progresif dan signifikan pada orang yang lebih tua (Lee dan Halter, 2017).

- c. Jenis kelamin

Laki-laki memiliki risiko yang lebih besar untuk terkena DM dibandingkan perempuan. Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan distribusi lemak tubuh. Pada wanita, peningkatan akumulasi lemak gluteo-femoralis yang dimodulasi oleh hormon estrogen menghasilkan “bentuk gynoid”, sementara laki-laki memiliki

lemak *visceral* yang lebih besar dibandingkan wanita dengan usia dan BMI yang sama (Kautzky-Willer *et al.*, 2016).

Sementara faktor risiko yang dapat dimodifikasi antara lain:

a. Gaya hidup

Perubahan gaya hidup yang semakin marak terjadi seperti *sedentary lifestyle*, kurangnya aktivitas fisik, merokok, dan konsumsi alkohol juga merupakan faktor risiko terjadinya DM tipe-2 (Wu *et al.*, 2014). Risiko penyakit metabolik dikaitkan dengan berapa banyak waktu yang dihabiskan seseorang untuk duduk selama satu hari (rata-rata lebih dari 10 jam/hari atau lebih dari 70 jam/minggu) (Hamilton *et al.*, 2014). Aktivitas fisik meningkatkan translokasi GLUT-4 dari intraselular ke membran plasma dan tubulus T sel otot skelet. Ambilan glukosa oleh otot yang sedang bekerja meningkat 7-20 kali dari kondisi basal (Messina *et al.*, 2015).

b. Obesitas sentral

Terdapat hubungan yang erat antara obesitas dan DM tipe-2. Untuk setiap kilogram yang naik setiap tahunnya selama 10 tahun, terdapat peningkatan risiko sebesar 49% untuk mengembangkan DM tipe-2. Sebaliknya, untuk setiap kilogram yang turun setiap tahunnya selama 10 tahun, terdapat penurunan risiko DM tipe-2 sebesar 33%. Lemak abdomen meningkatkan risiko DM tipe-2 melalui peningkatan sekresi asam lemak bebas dan adipositokin (seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, resistin) serta penurunan adiponektin dan leptin (Aftab *et al.*, 2014).

c. Stres

Stres berhubungan dengan DM tipe-2 melalui efek langsung neuroendokrin maupun tidak langsung. Efek langsung neuroendokrin meliputi peningkatan hormon stres seperti kortisol dan adrenalin yang merupakan *counter-regulatory* insulin. Sementara efek tidak langsung dimediasi oleh faktor risiko tradisional seperti stres dapat mengurangi keinginan berolahraga (Harris *et al.*, 2017).

### 2.1.5 Patofisiologi

Insulin merupakan hormon yang berperan dalam pengaturan kadar glukosa darah dengan cara menyimpan kelebihan karbohidrat sebagai glikogen di hepar dan otot serta lemak di jaringan adiposa. Sekresi insulin berlangsung dalam dua tahap.

Tahap pertama berlangsung dalam 3-5 menit setelah terjadi peningkatan segera kadar glukosa darah. Pada tahap ini, kadar insulin plasma meningkat hampir 10 kali lipat. Namun, dalam 5-10 menit kemudian, kecepatan sekresi insulin akan berkurang hingga kira-kira setengah dari kadar normalnya. Sekitar 15 menit kemudian, sekresi insulin kembali meningkat untuk kedua kalinya dengan kecepatan sekresi yang lebih besar dibandingkan dengan pada tahap pertama (Guyton dan Hall, 2014).

Resistensi insulin menyebabkan gangguan penggunaan glukosa oleh jaringan-jaringan peka insulin seperti otot, hepar, dan lemak serta meningkatkan produksi glukosa hepatic. Kedua hal ini akan meningkatkan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) (Powers, 2015). Hiperglikemia menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan melalui beberapa mekanisme, yaitu:

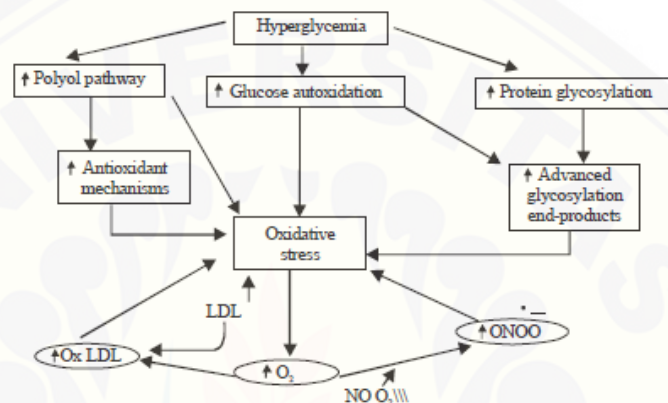
1. Peningkatan aktivitas jalur polyol.

Pada kondisi hiperglikemia, enzim aldose reduktase aktif dan mereduksi glukosa menjadi sorbitol menggunakan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) sebagai kofaktor. Sorbitol kemudian dioksidasi menjadi fruktosa oleh enzim sorbitol dehidrogenase menggunakan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (NAD<sup>+</sup>) sebagai kofaktor. Fruktosa yang dihasilkan dapat difosforilasi menjadi fruktosa-3-fosfat dan menyebabkan pembentukan *Advanced Glycation End-products* (AGE) (Mathebula, 2015). Jalur polyol menginduksi stres oksidatif akibat adanya konsumsi NADPH oleh glukosa yang di sisi lain diperlukan untuk regenerasi glutathion (GSH), sebuah agen antioksidan untuk mengikat ROS (Gallagher *et al.*, 2016).

2. Peningkatan pembentukan AGE intraselular.

AGE adalah produk reaksi nonenzimatik antara gugus karbonil reaktif dari gula pereduksi (seperti glukosa, fruktosa, gliseraldehida atau senyawa karbonil, dan asetaldehida) dan gugus amino bebas pada protein. Produk utama dari reaksi ini disebut basa Schiff yang tidak stabil, yang kemudian mengalami penataan ulang secara spontan menjadi produk Amadori yang lebih stabil. Setelah itu, produk Amadori mengalami proses dehidrasi, oksidasi, dan berbagai reaksi kimia lainnya membentuk senyawa irreversibel yang disebut AGE (Singh *et al.*, 2014).

Reaksi glikasi nonenzimatik (Maillard) ini juga dapat terjadi antara gula dan makromolekul lainnya seperti lipid dan asam nukleat. Dalam kondisi fisiologis, AGE terbentuk secara alami dengan laju yang lambat, namun kecepatan pembentukan AGE dapat meningkat dalam beberapa kondisi seperti hiperglikemia, hiperlipidemia, dan peningkatan stres oksidatif (Chen *et al.*, 2018). Mekanisme peningkatan AGE pada hiperglikemia digambarkan dalam Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Mekanisme peningkatan AGE pada hiperglikemia (Sumber: Chikezie *et al.*, 2015)

### 3. Peningkatan ekspresi reseptor AGE.

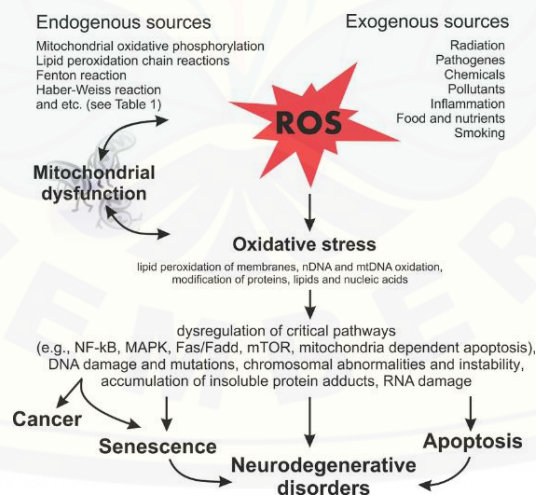
AGE dapat berikatan dengan salah satu anggota superfamili immunoglobulin yang dikenal sebagai reseptor AGE (RAGE). Ikatan AGE/RAGE akan mengaktifkan berbagai jalur persinyalan intrinsik yang terdiri dari PKC, PI3K/Akt, Src/RhoA, JAK/STAT, MAPK/ERK, dan NADPH oksidase. Aktivasi jalur-jalur persinyalan intrinsik ini menghasilkan kadar NF-kB, EGR-1, dan/atau faktor transkripsi lain yang lebih tinggi. Hal ini menyebabkan proteolisis yang mengarah pada peningkatan protein yang teroksidasi dan rusak, induksi inflamasi, peningkatan produksi ROS, dan akhirnya mempengaruhi aktivitas metabolisme seluler (Asadipooya *et al.*, 2019).

ROS telah terbukti menginduksi stres oksidatif dalam berbagai bentuk penyakit. Peningkatan produksi ROS di dalam mitokondria dapat menyebabkan berkurangnya jumlah DNA mitokondria. Selain itu, ROS juga dapat bereaksi

dengan biomolekul seperti protein, karbohidrat, dan lemak, serta menyebabkan kerusakan membran mitokondria (Sikder *et al.*, 2013).

Mitokondria memiliki konsentrasi fosfolipid yang mengandung asam lemak tak jenuh rantai ganda. Asam lemak tak jenuh ini lebih rentan terhadap kerusakan oksidatif karena ikatan rangkap dalam struktur kimianya yang menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi komponen membran mitokondria ini, terutama asam dokosaheksaenoik yang diperlukan untuk perakitan fungsional kompleks mitokondria dapat menyebabkan kerusakan lebih lanjut dari rantai transport elektron. Akibatnya, sintesis ATP akan berkurang dan produksi ROS menjadi berlebihan (Ferramosca *et al.*, 2017).

Selanjutnya, aldehid yang terbentuk melalui peroksidasi asam lemak tak jenuh akan mengganggu homeostasis selular. Molekul ini akan mempengaruhi sintesis nukleotida dan protein, mengurangi jumlah glutathion hepar, dan meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, yaitu TNF- $\alpha$ . Akibatnya, terjadilah kematian hepatosit, inflamasi, dan fibrosis hepar (Ferramosca *et al.*, 2017). Mekanisme ROS dalam menginduksi gangguan hepar digambarkan dalam Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Mekanisme ROS menginduksi gangguan hepar (Sumber: Kudryavtseva *et al.*, 2016)

### 2.1.6 Gejala

Gejala dan tanda DM sering diabaikan oleh banyak orang karena perkembangan penyakit ini berlangsung secara progresif. Gejala klasik DM meliputi poliuri, polidipsi, polifagi, dan penurunan berat badan secara drastis. Selain itu, gejala-gejala lain yang mungkin timbul antara lain infeksi berulang (terutama di daerah genital, saluran kemih, kulit), penyembuhan luka yang lama, kesemutan pada jari tangan dan kaki, kelelahan, gatal-gatal, penglihatan memburuk, *acanthose nigricans*, dan gangguan ereksi bahkan impotensi (Ramachandran, 2014).

### 2.1.7 Diagnosis

Penegakan diagnosis DM dilakukan berdasarkan pemeriksaan kadar glukosa plasma yang dilakukan secara enzimatis dengan bahan darah vena. Kriteria diagnosis DM menurut PERKENI (2015) antara lain:

1. Pemeriksaan glukosa plasma puasa (kondisi tidak ada asupan kalori minimal 8 jam)  $\geq 126$  mg/dl.
2. Pemeriksaan glukosa plasma  $\geq 200$  mg/dl 2 jam setelah dilakukan Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 75 mg.
3. Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu  $\geq 200$  mg/dl disertai dengan keluhan klasik DM.
4. Pemeriksaan kadar HbA1c  $\geq 6,5\%$  dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh *National Glycohaemoglobin Standardization Program* (NGSP).

Hasil pemeriksaan yang tidak memenuhi kriteria normal maupun kriteria DM digolongkan ke dalam kelompok prediabetes yang meliputi: Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) dan Glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT). Diagnosis prediabetes dapat juga ditegakkan berdasarkan hasil pemeriksaan HbA1c yang menunjukkan angka 5,7-6,4% (PERKENI, 2015). Seseorang dikategorikan ke dalam kelompok prediabetes apabila memenuhi kriteria sebagai berikut:

- a. Glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT) yaitu jika hasil pemeriksaan glukosa plasma puasa antara 100-125 mg/dl dan pemeriksaan TTGO glukosa plasma 2-jam < 140 mg/dl;
- b. Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) yaitu jika hasil pemeriksaan glukosa plasma 2 jam setelah TTGO antara 140-199 mg/dl dan glukosa plasma puasa < 100 mg/dl;
- c. Bersama-sama didapatkan GDPT dan TGT.

Pemeriksaan HbA1c memiliki beberapa keuntungan dibandingkan pemeriksaan glukosa plasma puasa dan tes toleransi glukosa oral, yaitu lebih nyaman untuk pasien (karena tidak memerlukan puasa) dan nilainya tidak dipengaruhi oleh kondisi stres atau sakit. Namun, di sisi lain, pemeriksaan HbA1c memiliki sensitivitas yang lebih rendah, membutuhkan biaya yang lebih besar, serta terbatasnya fasilitas kesehatan yang dapat melakukan pemeriksaan ini, khususnya di negara berkembang. Pada kondisi-kondisi yang dapat mengganggu glikolasi hemoglobin seperti pengobatan HIV, umur, ras/etnis, status kehamilan, latar belakang genetik, dan anemia atau hemoglobinopati, hasil pemeriksaan HbA1c tidak dapat digunakan sebagai alat diagnosis atau evaluasi (ADA, 2019).

Selama tidak ditemukan klinis yang jelas (misalkan pasien dalam keadaan krisis hiperglikemia atau pasien menunjukkan gejala klasik hiperglikemia dengan hasil pemeriksaan glukosa plasma puasa  $\geq 200$  mg/dL), diagnosis DM membutuhkan dua hasil abnormal dari sampel yang sama atau dua sampel yang berbeda. Jika hasil kedua tes melebihi nilai ambang diagnostik, maka diagnosis DM dapat ditegakkan. Namun, jika dari dua metode pemeriksaan didapatkan hasil yang berbeda, maka hasil pemeriksaan yang melebihi nilai ambang diagnostik harus diulang (ADA, 2019).

#### 2.1.8 Komplikasi

Kadar glukosa darah yang tinggi dapat menginduksi terjadinya komplikasi. Secara umum, komplikasi DM dibagi berdasarkan onset dan jenis vaskular yang diserang. Berdasarkan jenis vaskular yang diserang, komplikasi DM dibagi menjadi komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular terdiri

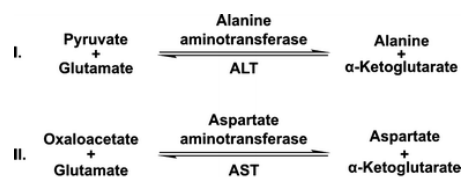
atas neuropati, nefropati, dan retinopati; sementara komplikasi makrovaskular terdiri atas penyakit kardiovaskular, stroke, dan penyakit arteri perifer (Jasper *et al.*, 2014).

Berdasarkan onsetnya, komplikasi DM dibagi menjadi komplikasi akut dan kronis. Komplikasi akut meliputi dehidrasi, gangguan keseimbangan elektrolit, ketoasidosis diabetikum, hiperosmolar non-ketotik, gangguan aktivitas imun, dan gangguan penyembuhan luka; sementara komplikasi kronis meliputi aterosklerosis, neuropati, nefropati, retinopati, serta penyakit kaki diabetik. Selain itu, terdapat komplikasi DM lain yang tidak dapat dimasukkan ke dalam dua kategori tersebut, seperti penyakit gigi, berkurangnya resistensi terhadap infeksi, dan komplikasi kelahiran pada wanita dengan DM gestasional (Papatheodorou *et al.*, 2018).

## 2.2 SGOT dan SGPT

### 2.2.1 SGOT dan SGPT sebagai Penanda *Hepatocellular Injury*

Serum aminotransferase seperti SGOT dan SGPT merupakan indikator kerusakan sel hepar yang sensitif. SGOT ditemukan paling banyak di jantung dibandingkan dengan organ lain seperti hepar, otot skelet, dan ginjal. Di dalam hepatosit, SGOT terdapat di mitokondria dan sitoplasma, sedangkan SGPT terutama terdapat dalam sitosol hepatosit. SGPT juga dapat ditemukan di otot, jaringan adiposa, usus halus, kolon, prostat, dan otak namun dalam konsentrasi yang jauh lebih rendah daripada yang terdapat di dalam hepar (Liu *et al.*, 2014). Oleh sebab itu, peningkatan kadar SGPT secara umum lebih spesifik untuk *liver injury* dibandingkan dengan SGOT. Ketika terjadi *liver injury*, kedua enzim ini akan dikeluarkan dari hepatosit sehingga kadarnya dalam serum meningkat (Ni *et al.*, 2012). Reaksi transaminasi oleh SGOT dan SGPT dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Mekanisme reaksi transaminasi (Sumber: Ellinger *et al.*, 2011)



Rentang normal kadar aminotransferase bervariasi antara 10-40 IU/L. Pola peningkatan kadar SGOT dan SGPT dapat membantu secara diagnostik. Pada sebagian besar gangguan hepatoseluler akut, kadar SGPT biasanya lebih tinggi atau sama dengan SGOT. Rasio SGOT:SGPT < 1 khas ditemukan pada pasien dengan hepatitis virus kronis dan NAFLD, namun ketika sudah berkembang menjadi sirosis, rasionya akan meningkat menjadi > 1. Rasio SGOT:SGPT > 2:1 atau SGOT:SGPT > 3:1 sugestif terhadap penyakit hati alkoholik (Pratt, 2015).

### 2.2.2 Kadar SGOT dan SGPT pada Penderita DM Tipe-2

Sejalan dengan patogenesis tersebut, studi yang dilakukan oleh Mandal *et al.* (2018) menyatakan bahwa kadar SGPT serum meningkat pada 40.4% populasi DM, sementara kadar SGOT dan ALP hanya meningkat 17% dan 16% pada populasi DM secara berurutan. Penelitian lain oleh Ni *et al.* (2012) juga menunjukkan peningkatan kadar SGPT, SGOT, dan ALP sebesar 18,5%, 14,8%, dan 6,2% pada penderita DM secara berurutan.

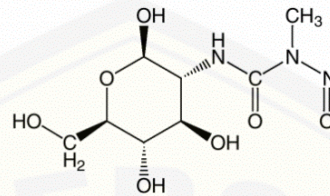
## 2.3 Streptozotocin

### 2.3.1 Definisi dan Sifat Kimia

Streptozotocin (2-deoxy-2-[3-methyl-3-nitrosourea] 1-D-glucopyranose) merupakan agen penginduksi DM secara permanen yang disintesis dari strain mikroba tanah *Streptomyces achromogenes* (bakteri gram positif). Streptozotocin memiliki berat molekul 265 g/mol dengan rumus molekul  $C_8H_{15}N_3O_7$ . Struktur molekul streptozotocin memiliki kemiripan dengan 2-deoxy-D-glucose dengan penggantian pada C2 oleh gugus N-metil-N-nitrosourea. Streptozotocin merupakan senyawa nitrosourea glukosamin dengan metil yang melekat pada salah satu ujung dan molekul glukosa pada ujung yang lain. Secara umum, streptozotocin digunakan sebagai agen induksi untuk penelitian DM karena sifat toksisitas selektifnya terhadap sel- $\beta$  pankreas (Goud *et al.*, 2015).

Streptozotocin tidak hanya dapat menginduksi DM tipe-1 melalui destruksi total sel- $\beta$  pankreas, tetapi juga dapat menyebabkan resistensi insulin perifer yang menginduksi terjadinya DM tipe-2. Penelitian juga menyatakan bahwa

streptozotocin mampu menyebabkan DM dengan derajat ringan hingga berat yang bervariasi sesuai dengan dosis, jenis dan umur hewan yang dipilih, status gizi hewan coba, serta rute pemberian, bersama dengan faktor-faktor lain (Qinna dan Badwan, 2015). Struktur kimia streptozotocin dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur kimia streptozotocin (Sumber: Goud *et al.*, 2015)

### 2.3.2 Mekanisme Kerja

Streptozotocin bekerja dengan cara membentuk radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan DNA. Streptozotocin memasuki sel- $\beta$  pankreas melalui GLUT-2 dan menyebabkan alkilasi DNA. Hal ini mendorong terjadinya nekrosis sel-sel  $\beta$  pankreas (Saputra *et al.*, 2018). Mekanisme lain yang mungkin menyebabkan kematian sel, yaitu kemampuan streptozotocin untuk bertindak sebagai donor NO dalam sel- $\beta$  pankreas. Streptozotocin diketahui meningkatkan aktivitas guanil siklase dan pembentukan cGMP yang merupakan karakteristik NO. Proses ini menghasilkan ROS dan menyebabkan kerusakan jaringan. Pemberian streptozotocin menyebabkan peningkatan MDA yang signifikan, namun menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti katalase, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase. Penurunan aktivitas antioksidan dan peningkatan signifikan aktivitas MDA menunjukkan kerentanan pankreas terhadap induksi stres oksidatif oleh streptozotocin (Eleazu *et al.*, 2013).

Selain pankreas, GLUT-2 juga ditemukan di membran sel hepar dan ginjal. Hal ini menjelaskan mengapa hewan coba yang diinduksi streptozotocin juga cenderung mengalami kerusakan hepar dan ginjal. Sementara itu, sel  $\alpha$  dan  $\delta$  serta parenkim ekstra pankreas tetap intak setelah pemberian streptozotocin. Hal ini membuktikan selektivitas streptozotocin terhadap sel yang memiliki GLUT-2 (Goud *et al.*, 2015).

### 2.3.3 Solubilitas dan Stabilitas

Streptozotocin memiliki kelarutan yang sangat tinggi dalam air, keton, dan alkohol dosis rendah, namun tidak terlalu larut dalam larutan polar organik. Stabilitas maksimum larutan streptozotocin berada pada pH 4. Streptozotocin dapat disimpan pada suhu 4° C dalam waktu singkat, sementara untuk jangka waktu lama streptozotocin harus disimpan pada suhu -20° C. Larutan streptozotocin dalam buffer sitrat atau asetat (pH 4,5) harus diberikan segera (kurang dari 15-20 menit setelah larut) karena senyawa tersebut tidak stabil. Efek sitotoksik streptozotocin terhadap sel- $\beta$  pankreas dapat terlihat dalam waktu 72 jam setelah pemberian, bergantung pada dosis yang diberikan (Goud *et al*, 2015).

### 2.3.4 Rute dan Dosis Administrasi

Streptozotocin umumnya diberikan secara intraperitoneal atau intravena, meskipun metode lain seperti subkutan, intrakardiak, dan intramuskular juga dapat digunakan. Pemberian streptozotocin umumnya menggunakan dua protokol pengaturan dosis, yaitu injeksi *single high dose* (100–220 mg/kgBB) atau *multiple low doses* (5 dosis harian berturut-turut 40 mg/kgBB) secara intraperitoneal. Injeksi *single dose* intravena atau intraperitoneal dosis 40-60 mg/kgBB juga dapat digunakan untuk menginduksi DM pada tikus (Goud *et al*, 2015). Streptozotocin dosis tinggi secara serius sekresi insulin yang menyerupai DM tipe-1, sementara dosis rendah diketahui menginduksi penurunan sedang sekresi insulin yang sebanding dengan gambaran aktual dari tahap selanjutnya DM tipe-2 (Islam *et al.*, 2017).

## 2.4 Kelor

### 2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kelor

*Moringa oleifera* adalah sebuah tanaman perdu dari famili Moringaceae. Kelor merupakan tanaman asli dari daerah di sebelah barat laut kaki pegunungan Himalaya dan menyebar secara luas ke timur (bagian bawah Cina, Asia Tenggara, dan Filipina) serta ke barat (Mesir, Afrika, sekitar Mediterania, dan akhirnya ke Hindia Barat di Amerika). Secara tradisional, kelor dikenal sebagai salah satu

pohon yang paling bermanfaat di seluruh dunia, karena hampir semua bagian tanaman ini memiliki nilai nutrisi, obat, dan properti berharga lainnya. (Singh *et al.*, 2014). Kelor merupakan tanaman dengan pertumbuhan cepat. Tingginya dapat mencapai 10-12 m dan diameter batangnya dapat mencapai 45 cm. Kulit pohonnya berwarna putih-keabuan, lunak dan bergetah (Konmy *et al.*, 2016).

Daun kelor berbentuk bulat telur dengan tepi daun rata dan berukuran kecil yang tersusun majemuk dalam satu tangkai. Daun kelor muda berwarna hijau muda dan akan berubah menjadi hijau tua pada daun yang sudah tua. Daun muda teksturnya lembut sedangkan daun tua agak kaku dan keras. Bunga kelor ada yang berwarna putih, putih kekuningan (krem), atau merah, bergantung pada jenis atau spesiesnya. Umumnya di Indonesia, bunga kelor berwarna putih kekuningan. Buah kelor berbentuk segitiga dengan panjang sekitar 20-60 cm, berwarna hijau ketika masih muda dan akan berubah menjadi coklat ketika tua. Biji berbentuk bulat dengan diameter 1 cm yang juga berwarna hijau terang saat masih muda dan berubah menjadi cokelat kehitaman ketika matang dan kering dengan rata-rata berat biji berkisar 18-36 gram/100 biji (Aminah *et al.*, 2015). Tanaman kelor dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Tanaman kelor (Sumber: Mishra *et al.*, 2011)

Kelor dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis maupun non-tropis pada suhu 25-35°C. Tanaman ini membutuhkan tanah yang agak berpasir atau liat dengan pH antara 4,5-8, serta curah hujan yang berkisar antara 250-3.000 mm pada ketinggian mencapai 2.000 m. Kelor berkembang biak melalui biji pada kedalaman 2 cm di tanah. Kelor juga dapat diperbanyak melalui wadah yang mengandung

tanah berpasir atau liat. Setelah tumbuh kira-kira 30 cm, kelor dapat dipindahkan ke tanah (Gopalakrishnan *et al.*, 2016)

Tanaman kelor memiliki banyak nama di dunia seperti *Miracle Tree*, *Horseradish*, *Drumstick*, *Benzolive Tree*, *Saijan*, *Ewe-ile*, *Mulanggay*, *Zogale*, *Odudu-oyingbo*, dan lain-lain (Omodanisi *et al.*, 2017). Sementara di Indonesia, kelor juga dikenal dengan nama berbeda di setiap daerah, yaitu kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), maronggih (Madura), moltong (Flores), kelo (Bugis), ongge (Bima), murong atau barunggai (Sumatera) dan hafo (Timur) (Aminah *et al.*, 2015). Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2013), klasifikasi tanaman kelor ialah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Tracheophyta  
Subdivisi : Spermatophytina  
Klas : Magnoliopsida  
Ordo : Brassicales  
Familia : Moringaceae  
Genus : Moringa  
Spesies : *Moringa oleifera* Lamk

#### 2.4.2 Kandungan Tanaman Kelor

Kelor diketahui mengandung sejumlah senyawa bioaktif. Bagian yang paling banyak dimanfaatkan adalah daun, yang kaya akan karotenoid, polifenol, asam fenolik, flavonoid, alkaloid, glukosinolat, isotiosianad, tanin, dan saponin (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017). Selain itu, kelor juga merupakan sumber yang kaya akan vitamin A, B, C, mineral (khususnya Fe), asam amino (leusin, glutamat, valin, aspartat, alanin, dan sebagainya), asam lemak, dan protein yang tinggi (Omodanisi *et al.*, 2017).

Seratus gram daun kelor kering mengandung 9 kali lipat vitamin A dalam wortel, 15 kali lipat kalium dalam pisang, 17 kali lipat kalsium dalam susu, 12 kali lipat vitamin C dalam jeruk, dan 25 kali lipat Fe dalam bayam (Paikra *et al.*, 2017). Asam fenolik memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang dapat menetralkan

radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen. Baru-baru ini juga dilaporkan bahwa konsumsi makanan yang kaya kuersetin mempengaruhi sebanyak 198 mikro RNA di jaringan kanker paru-paru. Hal ini menunjukkan bahwa kuersetin dapat memodulasi sintesis mikro RNA. Tanin dan saponin merupakan senyawa alami lain yang juga banyak ditemukan di daun kelor. Senyawa ini memperlihatkan efek antikanker dan antiinflamasi (Matic *et al.*, 2018). Kandungan daun kelor lebih rinci disajikan dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan tanaman kelor

Komponen	Bunga (100 g)	Buah (100 g)	Biji (100 g)	Daun Segar (100 g)	Daun Kering (100 g)
Kadar air (%)	93.02	90.86	3.11	94.01	4.09
Protein (g)	24.5	12.36	32.19	22.7	28.44
Lemak (g)	6.01	0.98	32.40	4.65	2.74
Serat (g)	5.07	22.57	15.87	7.92	12.63
Energi (kkal)	6.2	50.73	15.96	-	307.30

Sumber: Aminah *et al.*, 2015

Kandungan flavonoid dalam daun kelor juga diketahui lebih tinggi dibandingkan tanaman herba lain misalnya bawang putih, bawang merah, dan lada. Flavonoid total dalam bawang putih, bawang merah, dan lada berturut-turut adalah 4,08 mg, 3,99 mg, dan 7,05 mg/g sementara flavonoid total dalam daun kelor adalah 5,059-12,16 mg/ daun kering (Otunola *et al.*, 2013).

Flavonoid utama dari ekstrak etanol atau metanol daun kelor adalah kuersetin dan kaemferol. Kuersetin adalah polifenol flavonoid yang umumnya ditemukan pada bawang, apel, dan teh hijau. Kuersetin dikenal karena potensi hepatoprotektif, hipokolesterolemia, hipolipidemia, dan anti-aterosklerotiknya; didorong oleh sifat antiinflamasi dan antioksidan yang dimiliki. Sementara itu, melalui jalur MAPK/ERK, kaemferol bertindak sebagai promotor ampuh dari apoptosis sel kanker, serta mencegah kerusakan DNA dan mencegah transformasi menjadi sel ganas yang disebabkan oleh ROS pada sel normal (Lin *et al.*, 2018).

Folat adalah nutrisi penting yang diperlukan untuk replikasi DNA dan sebagai substrat untuk berbagai reaksi enzimatik yang terlibat dalam sintesis asam amino dan metabolisme vitamin. Defisiensi folat menyebabkan penyakit kronis berat dan

defek tabung saraf selama kehamilan. Penelitian yang dilakukan oleh Saini *et al.* (2016) menyatakan bahwa bioavailabilitas folat dari daun kelor jauh lebih tinggi (81.9%) dibandingkan dengan bioavailabilitas folat dari kubis kering (68%), sehingga daun kelor dapat digunakan sebagai sumber folat yang signifikan dalam makanan.

Dedaunan, bunga, dan buah kelor yang belum matang diketahui mengandung karotenoid yang tinggi. Daun kelor juga merupakan sumber yang kaya akan  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E) dan omega-3 serta omega-6, sehingga hal ini meningkatkan manfaat kesehatan dari kelor (Saini *et al.*, 2016). Kandungan lain dari kelor disajikan dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Fitokimia tanaman kelor

Senyawa	Fungsi yang Dipostulasikan	Perlindungan terhadap Penyakit
Flavonoid: Kuersetin	Antidiabetic	DM
	Menurunkan hyperlipidemia	Aterosklerosis
<i>Chlorogenic acid</i>	Menurunkan ekspresi DGAT	NAFLD
	Inhibisi kolesterol esterase dan $\alpha$ -glucosidase	CVD dan DM
	Inhibisi aktivitas NF-kB	CVD
	Menurunkan glukosa	DM
	Menurunkan kolesterol plasma dan hepar	CVD
	Menurunkan ekspresi CD68 dan SERBP1c	NAFLD
Alkaloid	Antiobesitas	Obesitas
	Inhibisi enzim terkait DM tipe-2	DM
Tannin	Proteksi terhadap jantung	CVD
Isotiosianat	Antiinflamasi	CVD, kanker
	Menurunkan ekspresi marker inflamasi	CVD
B-sitosterol	Reduksi resistensi insulin	DM
	Inhibisi signaling NF-kB	Kanker
	Menurunkan kolesterol	CVD

Daftar singkatan: CD68: *cluster of differentiation 68*; DGAT: *diacyl glycerol transferase*; NF-kB: *nuclear factor-kB*; SRBP1c: *sterol regulatory binding protein 1c*; DM: diabetes melitus; NAFLD: *non-alcoholic fatty liver disease*; CVD: *cardiovascular disease*  
Sumber: Vergara-Jimenez *et al.*, 2017

#### 2.4.3 Penggunaan Tanaman Kelor di Masyarakat

Setiap bagian kelor mengandung sejumlah nutrisi penting. Daun kelor dijadikan sebagai bahan makanan, khususnya di negara berkembang. Dalam pengobatan tradisional, daun kelor digunakan untuk mengobati beberapa penyakit seperti malaria, demam tifoid, infeksi parasit, artritis, pembengkakan, penyakit *genito-urinary*, hipertensi, dan diabetes. Daun kelor juga digunakan untuk meningkatkan produksi ASI dan kekebalan tubuh (untuk mengobati gejala-gejala terkait HIV/AIDS), stimulan jantung, dan obat kontrasepsi. Kulit pohon kelor direbus dalam air dan direndam dalam alkohol untuk dijadikan minuman yang dapat digunakan untuk meringankan sakit perut, gastritis, gangguan pencernaan, nyeri sendi, DM, anemia, hipertensi, hemoroid (Leone *et al.*, 2015).

Biji kelor diekstrak untuk menghasilkan minyak yang kaya akan asam oleat, tokoferol, dan sterol yang dapat digunakan untuk memasak sebagai pengganti minyak kelapa, namun juga dapat digunakan sebagai biodiesel, kosmetik, dan pelumas untuk mesin. Ekstrak biji kelor telah dibuktikan dapat mengeliminasi logam berat (seperti timbal, tembaga, kadmium, kromium, dan arsen) dari air. Selain itu, ekstrak biji kelor memiliki efek antimikroba yang berpengaruh dalam mencegah penyakit yang ditularkan melalui air (*waterborne diseases*) (Matic *et al.*, 2018).

#### 2.4.4 Farmakologi Daun Kelor sebagai Hepatoprotektor

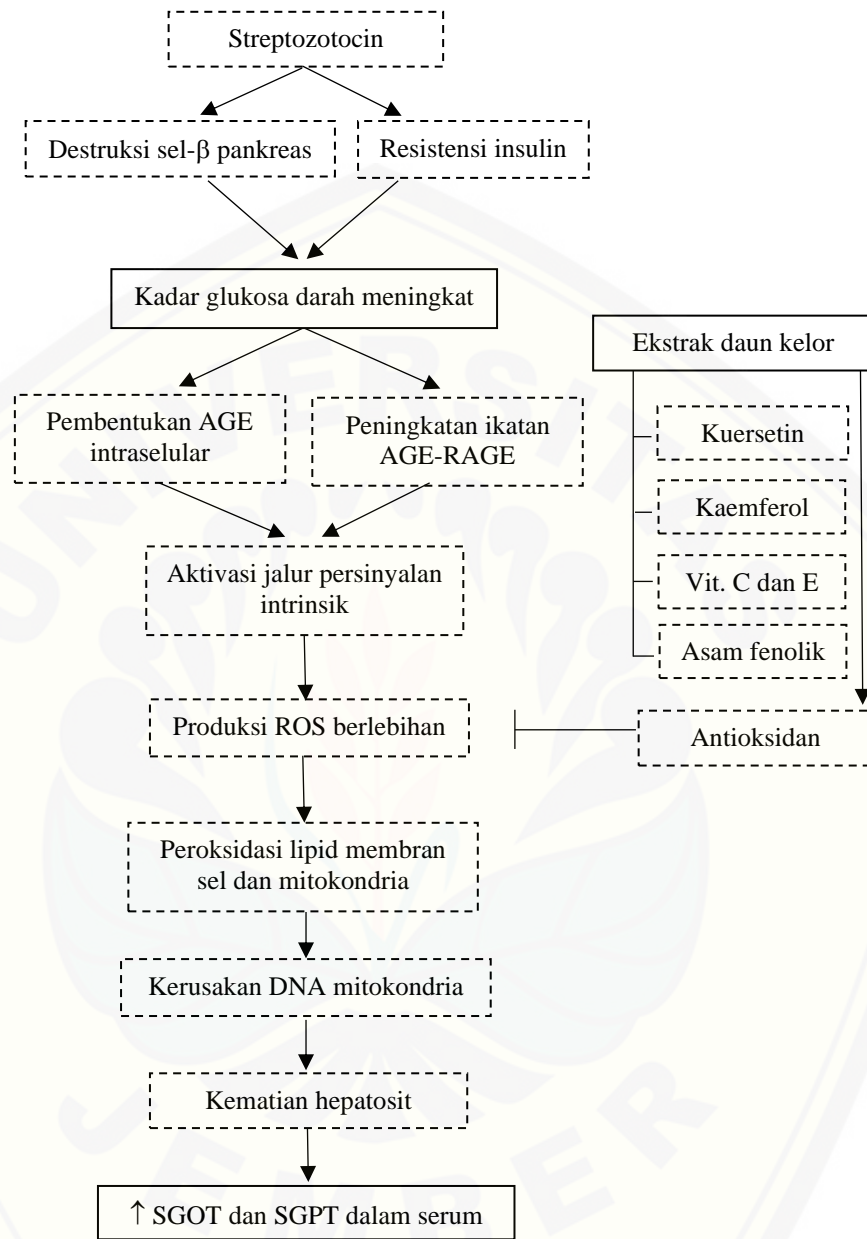
Daun kelor diketahui memiliki aktivitas hepatoprotektif yang signifikan. Ekstrak etanol daun kelor menunjukkan proteksi yang signifikan terhadap kerusakan hepar yang diinduksi oleh obat anti tuberkulosis (isoniazid, rifampisin, dan pirazinamid) pada tikus, sementara ekstrak metanol daun kelor juga menunjukkan proteksi yang signifikan terhadap kerusakan hepar yang diinduksi CCl<sub>4</sub> pada tikus albino. Selain daun, akar dan bunga kelor juga memiliki aktivitas hepatoprotektif yang tinggi. Efek ini diduga disebabkan oleh adanya kuersetin, sebuah agen flavonoid yang terkenal akan efek hepatoprotektifnya (Farooq *et al.*, 2012).



Ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan merupakan dasar patofisiologi terganggunya fungsi hepar pada pasien DM. Ketidakseimbangan ini menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan disfungsi mitokondria yang akan meningkatkan pembentukan ROS. Hal ini akan menginduksi inflamasi hepar dan fibrosis dan memicu terbentuknya berbagai lesi hepatic yang pada akhirnya menyebabkan penyakit hepar stadium akhir (Marcolin *et al.*, 2013).

Kuersetin diketahui berperan dalam aktivasi biogenesis mitokondria melalui *Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator-1 alpha* (PGC-1 $\alpha$ ). PGC-1 $\alpha$  adalah anggota keluarga ko-aktivator transkripsi yang memiliki peran sentral dalam regulasi metabolisme energi seluler. Fungsi sentral PGC-1 $\alpha$  yang terkait erat dengan biogenesis mitokondria adalah detoksifikasi ROS. Hal ini mendorong terjadinya perbaikan fungsi mitokondria dan meningkatkan oksidasi asam lemak bebas sehingga mencegah akumulasi asam lemak dalam hepatosit. Akibatnya, fungsi hepar juga akan membaik (Austin dan St-Pierre, 2012).

2.5 Kerangka Konseptual



Gambar 2.6 Kerangka konseptual

Keterangan:

- : diteliti
- : tidak diteliti
- : merangsang
- | : menghambat

Pemaparan streptozotocin akan menyebabkan destruksi sel- $\beta$  pankreas dan resistensi insulin. Akibatnya, kadar glukosa darah meningkat. Peningkatan glukosa darah ini menyebabkan aktivasi jalur polyol, pembentukan AGE intraselular, dan peningkatan ikatan AGE-RAGE yang akan mengaktifkan berbagai jalur persinyalan intrinsik. Aktivasi jalur-jalur ini menghasilkan faktor transkripsi seperti NF- $\kappa$ B dan EGR-1. Akibatnya, terjadi peningkatan proteolisis, inflamasi, dan produksi ROS yang akan merusak DNA dan membran mitokondria.

Membran mitokondria mengandung asam lemak tak jenuh rantai ganda yang sangat rentan terhadap peroksidasi lipid akibat stres oksidatif. Peroksidasi lipid ini menghasilkan aldehid yang akan mempengaruhi sintesis nukleotida dan protein, mengurangi kadar glutathion hepar, serta meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, yaitu TNF- $\alpha$ . Akibatnya, terjadilah kematian hepatosit, inflamasi, dan fibrosis hepar. Sebagai konsekuensinya, enzim SGOT dan SGPT akan keluar dari hepatosit menuju sirkulasi dan kadarnya dalam sirkulasi akan meningkat.

Tanaman kelor mengandung sejumlah senyawa antioksidan seperti kuersetin, kaemferol, vitamin C, vitamin E, dan asam fenolik. Senyawa-senyawa antioksidan ini berfungsi sebagai pengikat ROS yang poten sehingga akan mencegah produksi ROS berlebihan dan memperbaiki kerusakan DNA mitokondria. Hasilnya adalah perbaikan hepatosit dan peningkatan SGOT serta SGPT dalam sirkulasi dapat dicegah.

## 2.6 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat efek pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus model diabetes yang diinduksi streptozotocin.

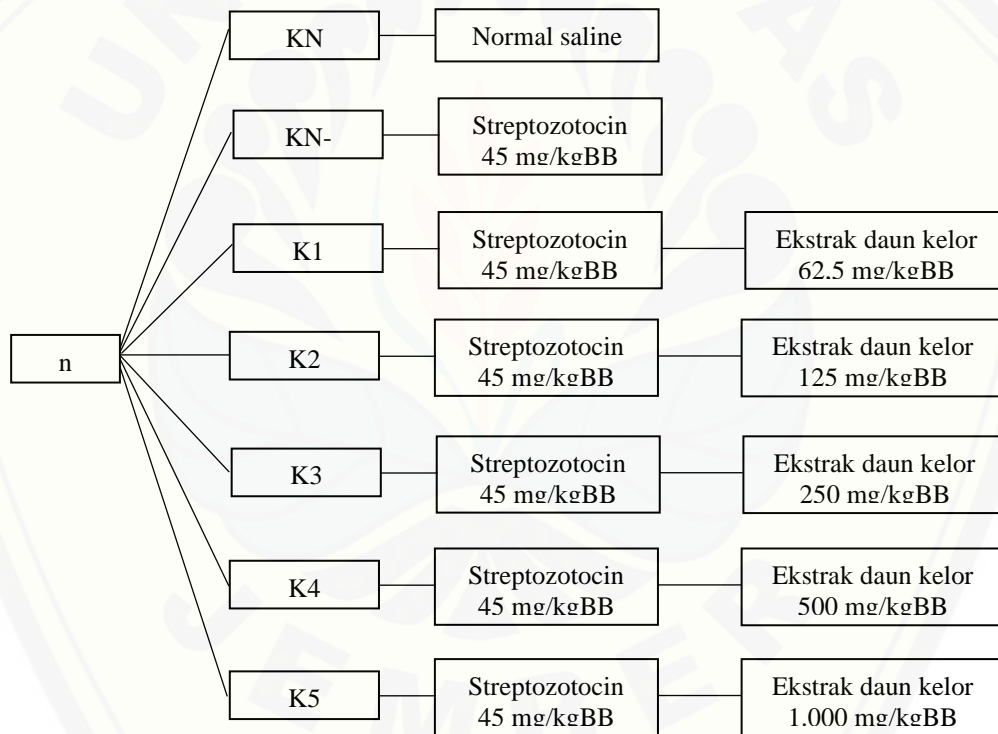
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *in vitro quasi experimental design*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *post test only control group design*, dengan skema penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 3.1:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

#### Keterangan

n : sampel

KN : kelompok kontrol normal

KN- : kelompok kontrol negatif

K1 : kelompok perlakuan 1

K2 : kelompok perlakuan 2

K3 : kelompok perlakuan 3

K4 : kelompok perlakuan 4

K5 : kelompok perlakuan 5

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Waktu pelaksanaan penelitian, yaitu bulan November 2019 hingga Januari 2020.

### 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan albino (*Rattus norvegicus*) galur Wistar usia 2-3 bulan dengan berat badan 200-300 gram. Tikus didapat dari peternakan tikus di Malang. Pengelompokan sampel dilakukan secara *simple random sampling*.

#### 3.4.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang dibutuhkan menurut rumus pengulangan *Federer* adalah:

$$\begin{aligned} (t-1) (n-1) &\geq 15 \\ (7-1) (n-1) &\geq 15 \\ 6 (n-1) &\geq 15 \\ n-1 &\geq 2,5 \\ n &\geq 3,5 \\ n &\approx 4 \end{aligned}$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, jumlah sampel minimal tiap kelompok adalah 4 sehingga total sampel yang dibutuhkan sebanyak 28 ekor tikus. Untuk mengantisipasi hilangnya jumlah sampel, maka dilakukan koreksi dengan:

$$\begin{aligned} N &= n/(1-f) \\ &= 4/(1-10\%) \\ &= 4/(1-0,1) \\ &= 4/0,9 \\ &= 4,44 \\ &\approx 5 \end{aligned}$$

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebesar 10%

Sampel yang dibutuhkan dalam tiap kelompok adalah 5 ekor, sehingga penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus yang dibagi ke dalam 7 kelompok.

### 3.4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

#### a. Kriteria inklusi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus memenuhi kriteria di bawah ini, yaitu:

- 1) Tikus jantan albino (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan usia 2-3 bulan.
- 2) Tikus dalam keadaan sehat dan tidak cacat selama observasi yang dilakukan selama 7 hari sebelum perlakuan.
- 3) Tikus memiliki berat 200-300 gram.
- 4) Tikus dengan kadar glukosa darah puasa  $\geq 200$  mg/dL setelah injeksi streptozotocin.

#### b. Kriteria eksklusi

Sampel akan dikeluarkan dari penelitian jika memenuhi kriteria di bawah ini, yaitu:

- 1) Gerakan tikus tidak aktif; rambut kusam, rontok, atau botak; keluar eksudat dari mata, mulut, anus, atau genital; dan tikus tidak mau makan dan minum.
- 2) Tikus mati selama penelitian.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak daun kelor.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT tikus usia 2-3 bulan.

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah pemeliharaan hewan coba, jenis kelamin jantan, berat badan 200-300 gram, frekuensi induksi streptozotocin sebanyak satu kali, frekuensi dan lama penyondean ekstrak daun kelor sebanyak satu kali per hari selama 28 hari, serta prosedur penelitian.

### 3.6 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala
Ekstrak daun kelor	Ekstrak daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ) adalah hasil ekstraksi dari daun kelor dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Dosis ekstrak daun kelor yang digunakan sebesar 62,5 mg/kgBB, 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1.000 mg/kgBB.	mg/kgBB	Rasio
Kadar SGOT dan SGPT	Pengukuran SGOT dan SGPT dilakukan menggunakan metode kinetik enzimatis IFCC dengan serum tikus sebagai sampel. Nilai normal SGOT tikus adalah 7-40 U/L sedangkan nilai normal SGPT tikus adalah 18-45 U/L.	U/L	Rasio
Induksi streptozotocin	Pemberian streptozotocin dilakukan untuk menginduksi DM pada tikus. Dosis yang diberikan sebesar 45 mg/kgBB secara intraperitoneal. Injeksi dilakukan sebanyak satu kali pada hari ke-8 sampai kadar glukosa darah puasa tikus $\geq 200$ mg/dL.	mg/kgBB	Rasio

### **3.7 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.7.1 Alat Penelitian**

Penelitian ini menggunakan alat-alat berupa kandang tikus, tempat makan dan minum tikus, lemari pendingin untuk menyimpan ekstrak dan reagen, spuit untuk injeksi perlakuan, sonde lambung untuk pemberian ekstrak kelor, sarung tangan, *waterbath* untuk menguapkan pelarut pada pembuatan ekstrak daun kelor, glukometer, stik glukometer, fotometer untuk mengukur kadar SGOT dan SGPT, kertas saring, vortex, *magnetic stirrer*, *disposable tube*, *sentrifuge*, gunting, corong, ayakan, spidol, blender, *beaker glass*, gelas ukur, mikropipet, *yellow* dan *blue tip*, pinset, tabung reaksi, dan timbangan.

#### **3.7.2 Bahan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan berupa tikus, aquades, ekstrak daun kelor, streptozotocin, buffer sitrat, normal saline, larutan dekstrosa 10%, serta reagen pemeriksaan SGOT dan SGPT merk DIALAB.

### **3.8 Prosedur Penelitian**

#### **3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor**

Pembuatan ekstrak daun kelor dilakukan dengan menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 96%. Daun kelor segar dicuci bersih dengan air, kemudian diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung hingga kering. Daun kelor yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender. Bubuk daun kelor diayak untuk memisahkan bagian daun yang masih kasar. Seratus gram bubuk halus daun kelor kemudian dimaserasi menggunakan 1.000 ml etanol 96% di dalam sebuah toples yang tertutup rapat dan terlindung dari matahari. Diamkan selama 48 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas penyaring, dan residunya kembali dimaserasi dengan etanol 96% selama 48 jam selanjutnya hingga didapat maserat yang jernih. Hasil ekstrak cair dievaporasi menggunakan *waterbath* pada suhu 60° C hingga membentuk sediaan kental (Wardani *et al.*, 2017).



### 3.8.2 Pengenceran Ekstrak Daun Kelor

Dosis ekstrak daun kelor yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Omodanisi *et al.* (2017) yang dimodifikasi, yaitu 62,5 mg/kgBB (larutan A), 125 mg/kgBB (larutan B), 250 mg/kgBB (larutan C), 500 mg/kgBB (larutan D), dan 1.000 mg/kgBB (larutan E) (Lampiran 3.1).

### 3.8.3 Penentuan Dosis

#### a. Dosis streptozotocin

Perhitungan dosis streptozotocin untuk setiap 200 gram tikus dengan dosis sebesar 45 mg/kgBB secara intraperitoneal.

$$\begin{aligned}\text{Dosis streptozotocin} &= 200 \text{ g} / 1.000 \text{ g} \times 45 \text{ mg} \\ &= 9 \text{ mg}\end{aligned}$$

Streptozotocin tidak dapat larut dalam air, sehingga streptozotocin diinjeksikan dalam bentuk suspensi kepada hewan coba menggunakan buffer sitrat 0,1 M dengan pH 4,5. Konsentrasi streptozotocin yang dibuat adalah 22,5 mg/ml. Buffer sitrat terbuat dari campuran asam sitrat dan natrium sitrat, lalu ditambahkan aquades. Campuran tersebut dihomogenkan selama kurang lebih 5 menit. Setelah homogen, ke dalam campuran tersebut ditambahkan streptozotocin dan dihomogenkan kembali, lalu diinjeksikan secara intraperitoneal ke tikus dalam kurun waktu 5 menit.

$$\begin{aligned}\text{Volume buffer sitrat} &= 9 \text{ mg STZ} / 22,5 \text{ mg/ml} \\ &= 0,4 \text{ ml}\end{aligned}$$

#### b. Dosis daun kelor

Dosis daun kelor yang akan diberikan pada tikus selama 28 hari yaitu 62,5 mg/kgBB, 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1.000 mg/kgBB.

### 3.8.4 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba dibagi ke dalam tujuh kelompok yang terdiri atas tujuh perlakuan, jumlah tikus pada masing-masing kelompok adalah empat ekor. Hewan dipelihara dalam satu kandang yang berisi 1-2 ekor tikus.

### 3.8.5 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian

Tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama tujuh hari dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*. Kemudian, tikus yang sesuai dengan kriteria inklusi dibagi ke dalam tujuh kelompok secara acak, yaitu kelompok KN, KN-, K1, K2, K3, K4, dan K5. Selanjutnya, tikus kelompok KN diinjeksi normal saline secara intraperitoneal, sementara tikus kelompok KN-, K1, K2, K3, K4, dan K5 diinjeksi streptozotocin dosis 45 mg/kgBB secara intraperitoneal. Tiga hari kemudian, ekor tikus dipotong untuk diukur kadar glukosa darahnya menggunakan glukometer. Setelah terjadi kondisi hiperglikemia (kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dL), masing-masing tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya yaitu normal saline untuk KN dan KN-, 62,5 mg/kgBB ekstrak daun kelor untuk K1, 125 mg/kgBB ekstrak daun kelor untuk K2, 250 mg/kgBB ekstrak daun kelor untuk kelompok K3, 500mg/kgBB ekstrak daun kelor untuk kelompok K4, dan 1.000 mg/kgBB ekstrak daun kelor untuk K5. Perlakuan ini dilakukan selama 28 hari.

### 3.8.6 Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT Tikus

Tikus dianestesi terlebih dahulu dengan cara dimasukkan ke dalam toples kaca yang sebelumnya telah diberi kapas yang mengandung dietil eter. Amati hingga tikus menunjukkan tanda-tanda bahwa zat anestesi telah bekerja, seperti berkurangnya pergerakan spontan, laju pernapasan lambat, dan kurangnya respon terhadap rangsangan (misalnya dengan mencubit jari kaki). Selanjutnya, tikus dikeluarkan dan diletakkan di atas papan pembedahan. Lakukan fiksasi pada keempat kaki tikus dengan menggunakan jarum pentul. Untuk memastikan tikus tetap berada di bawah anestesi, sebuah handuk yang telah direndam dalam *volatile anesthetic* diletakkan di hidung tikus selama prosedur berlangsung.

Tikus kemudian dibedah menggunakan gunting dari abdomen hingga thoraks sampai jantung tikus terlihat. Masukkan spuit 5 cc pada ventrikel sampai spuit terisi kira-kira 3-4 cc darah. Kemudian diamkan  $\pm 30$  menit lalu sentrifuge dengan kecepatan 5.000-6.000 rpm selama 5-10 menit hingga didapatkan serum. Selanjutnya ambil 100  $\mu$ l serum dan campur dengan 1.000  $\mu$ l reagen 1 SGOT. Lakukan inkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Kemudian, tambahkan 250  $\mu$ l

reagen 2 SGOT dan campur hingga homogen. Inkubasikan kembali selama 1 menit. Setelah itu, baca kadarnya menggunakan fotometer DTN 510k dengan panjang gelombang 340 nm. Lakukan cara yang sama untuk mengukur kadar SGPT. Metode yang digunakan dalam pemeriksaan ini adalah metode kinetik enzimatik.

### 3.8.7 Penerapan Prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*)

Nyeri dan distress pada hewan coba menjadi pusat perhatian publik umum dan peneliti sejak lama. Seiring dengan meningkatnya jumlah penggunaan hewan coba dalam studi fundamental dan terapan, W.M.S. Russell dan R.L. Burch menerbitkan buku *The Principles of Humane Experimental Technique* pada tahun 1959. Dalam bukunya, Russell dan Burch menekankan penerapan prinsip 3R pada semua studi yang melibatkan hewan coba, yaitu sebagai berikut.

#### a. *Replacement*

*Replacement* berarti banyaknya hewan coba yang hendak digunakan perlu diperhitungkan dengan seksama, baik dari penelitian sejenis sebelumnya maupun literatur dan penggunaan hewan coba benar-benar tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain, seperti sel atau biakan jaringan.

#### b. *Reduction*

*Reduction* berarti menurunkan jumlah hewan coba yang digunakan hingga seminimal mungkin. Hal ini mungkin dicapai dengan mengurangi jumlah variabel melalui desain eksperimental yang baik, penggunaan statistik yang tepat, menggunakan genetik hewan yang homogen, dan memastikan bahwa kondisi eksperimen terkontrol dengan baik.

#### c. *Refinement*

*Refinement* berarti memperlakukan hewan coba secara manusiawi (*humane*), dan memelihara hewan coba dengan baik, tidak menyakiti hewan, serta meminimalisir perlakuan yang menyakitkan sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba hingga akhir studi (*animal welfare*).

### 3.8.8 Penerapan Prinsip 5F (*Freedom*)

- a. *Freedom from hunger and thirst*. Poin ini dapat dilakukan dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum* serta kemudahan hewan coba dalam mengakses pakan dan minum kapan pun yang mereka kehendaki. Selain itu, jenis pakan yang diberikan harus sesuai dengan pakan alami dengan kandungan nutrisi yang seimbang.
- b. *Freedom from discomfort*. Poin ini dilakukan dengan memperhatikan kebutuhan hewan coba terhadap tempat tinggal yang sesuai. Faktor lingkungan yang harus diperhatikan meliputi temperatur, kelembapan, ventilasi, dan pencahayaan harus sesuai dengan kondisi alamiah hewan coba.
- c. *Freedom from pain, injury, or disease*. Poin ini dilakukan dengan tindakan pencegahan, dan jika telah terjadi, maka hewan coba harus mendapat terapi yang tepat. Penelitian dilakukan sebisa mungkin dengan cara yang tidak invasif, namun jika dibutuhkan haruslah menggunakan obat anestesi untuk mengurangi rasa sakit, serta menggunakan metode eutanasia yang telah disetujui komisi etik.
- d. *Freedom to fear and distress*. Poin ini dilakukan dengan menghindari prosedur atau teknik yang menyebabkan rasa takut dan stres pada hewan coba serta memberikan masa adaptasi sebelum penelitian berlangsung. Prosedur juga harus dilakukan oleh petugas yang memiliki keahlian dan telah mendapat pelatihan yang memadai untuk menghindari kesalahan dalam penanganan hewan dan pelaksanaan prosedur penelitian.
- e. *Freedom to express natural behavior*. Poin ini dilakukan dengan penyediaan luas kandang yang cukup, kualitas kandang yang baik, dan teman dari hewan yang sejenis dengan memperhatikan sosialisasi, tingkah laku spesifik (misalnya cara mengambil makan), serta program pengayaan. Program pengayaan dilakukan dengan memberikan bentuk-bentuk mainan, bahan, atau alat yang dapat digunakan oleh hewan untuk mengekspresikan tingkah lakunya, contoh serutan kayu untuk rodensia.

### 3.9 Analisis Data

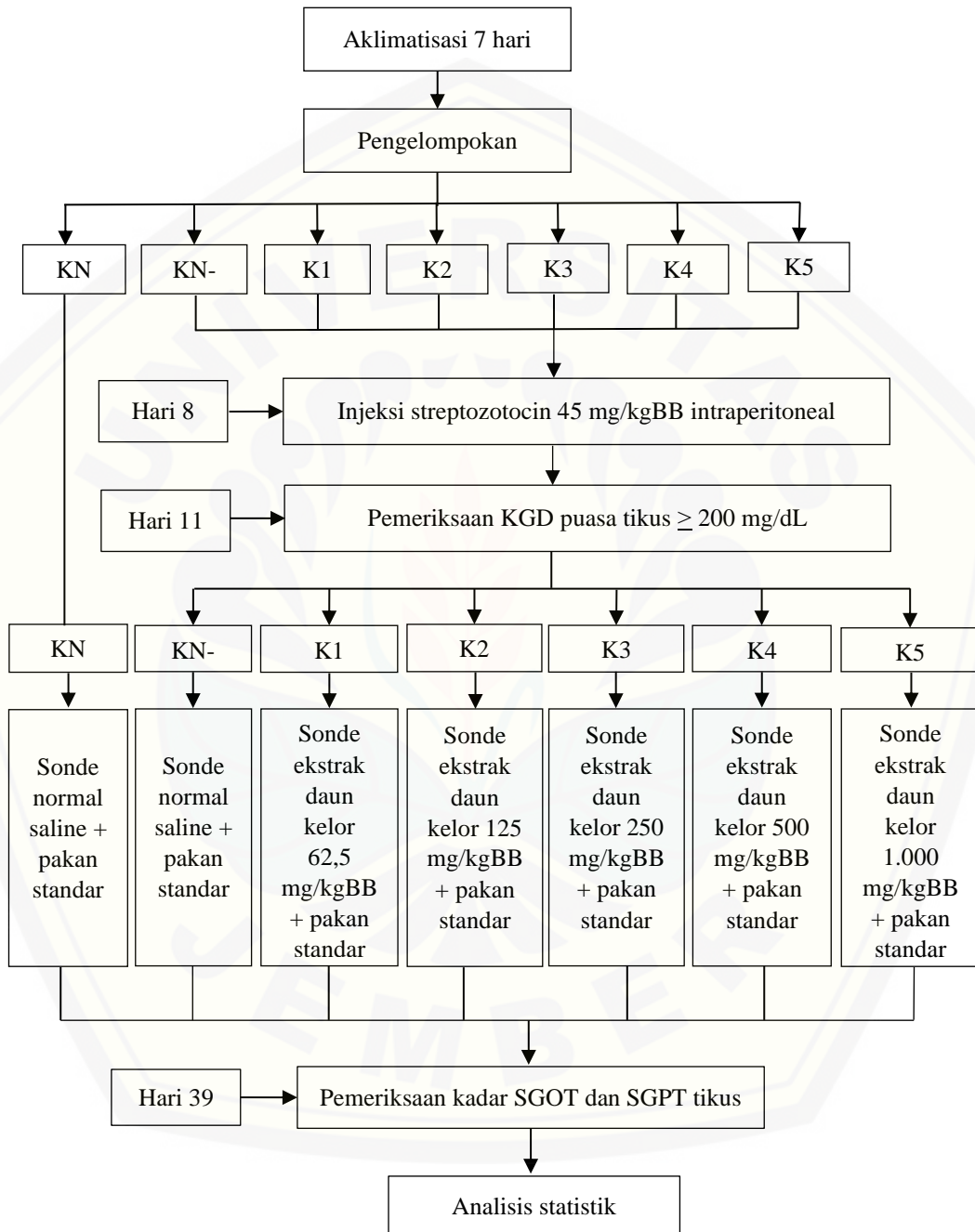
Data yang diambil adalah kadar SGOT dan SGPT tikus. Normalitas distribusi data diuji dengan *Saphiro wilk* dan homogenitas data diuji dengan *Levene*. Apabila data normal dan homogen, maka analisis data yang digunakan adalah uji *One-way* ANOVA untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus. Kemudian, untuk melihat rata-rata antar dua kelompok uji statistik dilanjutkan dengan *Post hoc* LSD.

### 3.10 Uji Kelayakan Etik

Penelitian ini telah mendapat sertifikasi kelayakan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan nomor sertifikat 1.373/H25.1.11/KE/2020. Sertifikat kelayakan etik dapat dilihat pada Lampiran 3.11.

### 3.11 Alur Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Alur penelitian

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abenavoli, L., N. Milic, F. Luzzza, L. Boccuto, dan A. De Lorenzo. 2017. Polyphenols treatment in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Translational Internal Medicine*. 5(3):144–147.
- Aftab, S., Reddy N., Smith E., dan Barber T. M. 2014. Obesity and type 2 diabetes mellitus. *Intern Med*. S6: 002.
- Alethea, T. dan M. R. Ramadhian. 2015. Efek antidiabetik pada daun kelor. *Majority*. 4(9):118-122.
- Ali, O. 2013. Genetics of type 2 diabetes. *World Journal of Diabetes*. 4(4):114-123.
- American Diabetes Association. 2019. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2019. *Diabetes Care*. 42(Supplement 1):S13–S28.
- Aminah S., T. Ramdhan, dan M. Yanis. 2015. Kandungan nutrisi dan sifat fungsional tanaman kelor (*Moringa oleifera*). *Buletin Pertanian Perkotaan*. 5(2):35-44.
- Asadipooya, K., K. B. Lankarani, R. Raj, dan M. Kalantarhormozi. 2019. RAGE is a potential cause of onset and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Endocrinology*. 2019:1–11.
- Austin, S. dan J. St-Pierre. 2012. PGC1 and mitochondrial metabolism - emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. *Journal of Cell Science*. 125(21):4963–4971.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2018. *Hasil Utama Riskesdas 2018*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Bakre, A. G., A. O. Aderibigbe, dan O. G. Ademowo. 2013. Studies on neuropharmacological profile of ethanol extract of moringa oleifera leaves in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 149(3):783–789.
- Banjarnahor, S. D. S. dan N. Artanti. 2014. Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones*. 23(4):239-244.
- Chikezie, P.C., O. A. Ojiako, dan A. C. Ogbuji. 2015. Oxidative stress in diabetes mellitus. *International Journal of Biological Chemistry*. 9(3):92-109.
- Chen, J.H., X. Lin, C. Bu, dan X. Zhang. 2018. Role of advanced glycation end products in mobility and considerations in possible dietary and nutritional intervention strategies. *Nutrition & Metabolism*. 15(1):72-89.

- Dai, W. L. Ye, A. Liu, S. W. Wen, J. Deng, X. Wu, dan Z. Lai. 2017. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Medicine*. 96(39):1-8.
- Eleazu, C., K. Eleazu, S. Chukwuma, dan U. Essien. 2013. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 12(1):60-66.
- Ellinger, J. J., I. A. Lewis, dan J. L. Markley. 2011. Role of aminotransferases in glutamate metabolism of human erythrocytes. *Journal of Biomolecular NMR*. 49(3-4):221-229.
- Farooq, F., M. Rai, A. Tiwari, A. A. Khan, dan S. Farooq. 2012. Medicinal properties of moringa oleifera: an overview of promising healer. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(27):4368-4374.
- Ferramosca, A., M. D. Giacomo, dan V. Zara. 2017. Antioxidant dietary approach in treatment of fatty liver: new insights and updates. *World Journal of Gastroenterology*. 23(23):4146-4157.
- Fiorentino, T. V., A. Prioletta, P. Zuo, dan F. Folli. 2013. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design*. 19(32):5695-5703.
- Gallagher, E.J., D. LeRoith, M. Stasinopoulos, Z. Zelenko, dan J. Shiloach. 2016. Polyol accumulation in muscle and liver in a mouse model of type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 30(6):999-1007.
- Ghimire, S., S. Shakya, J. Shakya, P. Acharya, dan B. D. Pardhe. 2018. Abnormal liver parameters among individuals with type 2 diabetes mellitus nepalese population. *Biochemistry & Pharmacology: Open Access*. 07(01):1-5.
- Gopalakrishnan, L., K. Doriya, dan D. S. Kumar. 2016. Moringa oleifera: a review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*. 5(2):49-56.
- Goud, B. J. Dwarakanath.V., dan B. K. Chikka swamy. 2015. Streptozotocin - a diabetogenic agent in animal models. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 3:(1):253-269.
- Guyton, A. C. dan John E. H. 2014. Insulin, Glukagon, dan Diabetes Melitus. *buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Singapura: Elsevier Inc.
- Hamilton, M. T., D. G. Hamilton, dan T. W. Zderic. 2014. Sedentary Behavior as a Mediator of Type 2 Diabetes. *Med Sport Sci*. 60:11-26.



- Harris, M. L., C. Oldmeadow, A. Hure, J. Luu, D. Loxton, dan J. Attia. 2017. Stress increases the risk of type 2 diabetes onset in women: a 12-year longitudinal study using causal modelling. *PLOS ONE*. 12(2):1-13.
- Integrated Taxonomic Information System. 2013. *Moringa oleifera* Lam. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=503874#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=503874#null). [Diakses pada 1 Oktober 2019].
- Jasper, U. S., M. C. Opara, dan E. B. Pyiki. 2014. Prevalence and clinical pattern of acute and chronic complications in african diabetic patients. *British Journal of Medicine & Medical Research*. 4(30): 4908-4917.
- Islam, M., M. Rupeshkumar, dan K. B. Reddy. 2017. Streptozotocin is more convenient than Alloxan for the induction of Type 2 diabetes. *International Journal of Pharmacological Research*. 7(01):06-11.
- Joseph, J. J., J. B. Echouffo-Tcheugui, S. H. Golden, H. Chen, N. S. Jenny, M. R. Carnethon, D. Jacobs, G. L. Burke, D. Vaidya, P. Ouyang, dan A. G. Bertoni. 2016. Physical activity, sedentary behaviors and the incidence of type 2 diabetes mellitus: the multi-ethnic study of atherosclerosis (mesa). *BMJ Open Diabetes Research & Care*. 4(1):1-12.
- Kautzky-Willer, A., J. Harreiter, dan G. Pacini. 2016. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine Reviews*. 37(3):278–316.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2012. *Penyakit Tidak Menular*. Volume 2. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Hasil Utama Riskesdas 2018 Provinsi Jawa Timur. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Konmy, B.B.S., P.A. Olounlade, S.D. Allou, E.V.B. Azando, dan M.S. Hounzangbé-Adoté. 2016. A review on phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves (*Moringaceae*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 5(5):325-330.
- Kudryavtseva, A. V., G. S. Krasnov, A. A. Dmitriev, B. Y. Alekseev, O. L. Kardymon, A. F. Sadritdinova, M. S. Fedorova, A. V. Pokrovsky, N. V. Melnikova, A. D. Kaprin, A. A. Moskalev, dan A. V. Snezhkina. 2016. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer. *Oncotarget*. 7(29):1-28.
- Kumari, D. J. 2010. Hypoglycaemic effect of *Moringa oleifera* and *Azadirachta indica* in type 2 diabetes mellitus. *The Bioscan*. 5(2):211-214.

- Lee, P. G. dan J. B. Halter. 2017. The pathophysiology of hyperglycemia in older adults: clinical considerations. *Diabetes Care*. 40(4):444–452.
- Leone, A., A. Spada, A. Battezzati, A. Schiraldi, J. Aristil, dan S. Bertoli. 2015. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of moringa oleifera leaves: an overview. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(12):12791–12835.
- Li, X., Y. Jiao, Y. Xing, dan P. Gao. 2019. Diabetes mellitus and risk of hepatic fibrosis/cirrhosis. *BioMed Research International*. 2019:1–8.
- Lin, M., J. Zhang, dan X. Chen. 2018. Bioactive flavonoids in moringa oleifera and their health-promoting properties. *Journal of Functional Foods*. 47:469–479.
- Lisiswanti, R. dan R. N. Cordita. 2016. Aktivitas Fisik dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah pada Diabetes Melitus Tipe 2. *Majority*. 5(3):140-144.
- Liu, Z., S. Que, J. Xu, dan T. Peng. 2014. Alanine aminotransferase-old biomarker and new concept: a review. *International Journal of Medical Sciences*. 11(9):925–935.
- Luedde, T., N. Kaplowitz, dan R. F. Schwabe. 2014. Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology*. 147(4):765-783.
- Mandal, A., B. Bhattarai, P. Kafle, M. Khalid, S. K. Jonnadula, J. Lamicchane, R. Kanth, dan V. Gayam. 2018. Elevated liver enzymes in patients with type 2 diabetes mellitus and non-alcoholic fatty liver disease. *Cureus*. 10(11):1-9.
- Marcolin, É., L. F. Forgiarini, G. Rodrigues, J. Tieppo, G. S. Borghetti, V. L. Bassani, J. N. Picada, dan N. P. Marroni. 2013. Quercetin decreases liver damage in mice with non-alcoholic steatohepatitis. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 112(6):385–391.
- Mathebula, S. D. 2015. Polyol pathway: a possible mechanism of diabetes complications in the eye. *African Vision and Eye Health*. 74(1):1-5.
- Matic, I., A. Guidi, M. Kenzo, A. Galgani, dan M. Mattei. 2018. Investigation of medicinal plants traditionally used as dietary supplements: a review on moringa oleifera. *Journal of Public Health in Africa*. 9(841):191-199.
- Messina, G., F. Palmieri, V. Monda, A. Messina, C. Dalia, A. Viggiano, D. Tafuri, F. Moscatelli, A. Vallenzano, G. Cibelli, S. Chieffi, dan M. Monda. 2015. Exercise causes muscle GLUT4 translocation in an insulin-independent manner. *Biology and Medicine*. 1(006):1-4.

- Mishra, G., P. Singh, R. Verma, S. Kumar, S. Srivastav, K. Jha, dan R. L. Khosa. 2011. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant: an overview. *Scholars Research Library*. 3(2):141-164.
- Mohamed, J., N. N. A. H., Z. A. H., dan B. S. B. 2016. Mechanisms of diabetes-induced liver damage: the role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University Medical Journal*. 16(2):132-141.
- Moodley, I. 2017. Acute toxicity of moringa oleifera leaf powder in rats. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 5(5):180-185.
- Muzumbukilwa, W. T., M. Nlooto, dan P. M. O. Owira. 2019. Hepatoprotective effects of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) leaf extracts in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Functional Foods*. 57:75-82.
- Ni, H., H. Htoo Kyaw Soe, dan A. Htet. 2012. Determinants of abnormal liver function tests in diabetes patients in myanmar. *International Journal of Diabetes Research*. 1(3):36-41.
- Omodanisi, E. I., Y. G. Aboua, N. N. Chegou, dan O. O. Oguntibeju. 2017. Hepatoprotective, antihyperlipidemic, and anti-inflammatory activity of moringa oleifera in diabetic-induced damage in male wistar rats. *Pharmacognosy Research*. 9(12):183-187.
- Omodanisi, E. I., G. Y. Aboua, dan O. O. Oguntibeju. 2017. Therapeutic potentials and pharmacological properties of *moringa oleifera* lam in the treatment of diabetes mellitus and related complications. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 16(7):1737-1746.
- Otunola, G. A. dan A. J. Afolayan. 2013. Evaluation of the polyphenolic contents and some antioxidant properties of aqueous extracts of garlic, ginger, cayenne pepper, and their mixture. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 86:66-70.
- Paikra, B. K., H. kumar J. Dhongade, dan B. Gidwani. 2017. Phytochemistry and pharmacology of moringa oleifera lam. *Journal of Pharmacopuncture*. 20(3):194-200.
- Papatheodorou, K., M. Banach, E. Bekiari, M. Rizzo, dan M. Edmonds. 2018. Complications of diabetes 2017. *Journal of Diabetes Research*. 2018:1-4.
- Parmar, K. S., G. K. Singh, G. P. Gupta, T. Pathak, dan S. Nayak. 2016. Evaluation of De Ritis ratio in liver-associated diseases. *International Journal of Medical Science and Public Health*. 5(09):1783-1788.

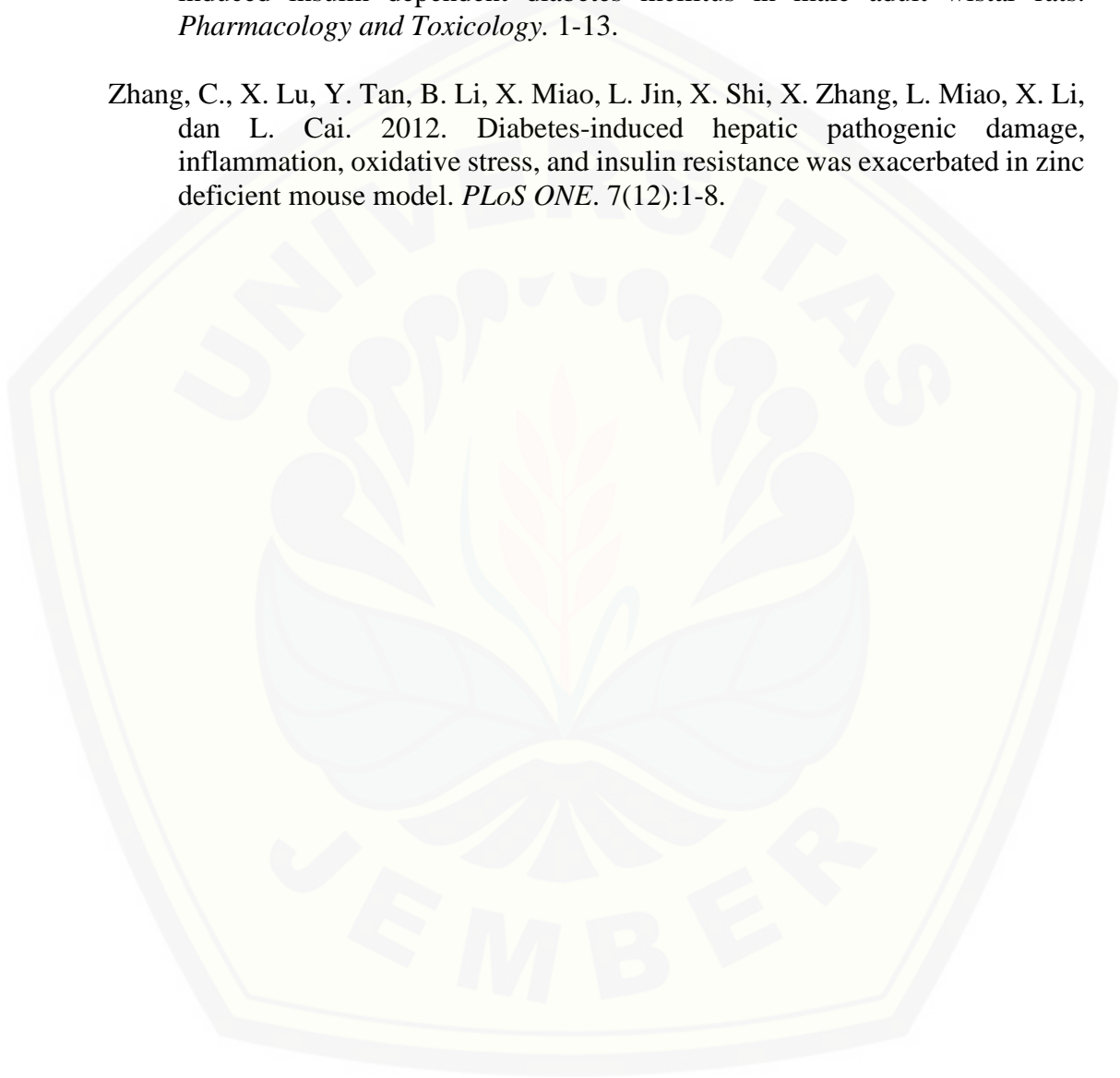
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2015*. Jakarta: PB Perkeni.
- Powers, A. C. 2015. Diabetes Mellitus: Diagnosis, Classification, and Pathophysiology. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Edisi 19. USA: The McGraw-Hill Companies Inc.
- Pratt, D. S. 2015. Evaluation of Liver Function. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Edisi 19. USA: The McGraw-Hill Companies Inc.
- Qinna, N. dan A. Badwan. 2015. Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Design, Development and Therapy*. 9:2515-2525.
- Ramachandran, A. 2014. Know the signs and symptoms of diabetes. *Indian J Med Res*.140(5):579-581.
- Rayamajhi, N., S. Kim, H. Go, Y. Joe, Z. Callaway, J. Kang, S. W. Ryter, dan H. T. Chung. 2013. Quercetin Induces Mitochondrial Biogenesis through Activation of HO-1 in HepG2 Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 5(1):1-10.
- Reza, A. dan B. Rachmawati. 2017. Perbedaan kadar sgot dan sgpt antara subyek dengan dan tanpa diabetes mellitus. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 6(2):158-166.
- Russell, W. M. S. dan Burch R. L. The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Co. Ltd, 1959.
- Saini, R. K., I. Sivanesan, dan Y.-S. Keum. 2016. Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *3 Biotech*. 6(2):203-216.
- Salih, N. D., G. H. Kumar, R. M. Noah, dan R. K. Muslih. 2014. The effect of streptozotocin induced diabetes mellitus on liver activity in mice. *Advances in Applied Science*. 3(1):67-75.
- Saputra, N. T., I. N. Suartha, dan A. A. G. O. Dharmayudha. 2018. Agen diabetagonik streptozotocin untuk membuat tikus putih jantan diabetes mellitus. *Buletin Veteriner Udayana*. 116-121.
- Sherwood, L. 2013. *Introduction to Human Physiology: From Cells to Systems*. Edisi 8. Canada: Nelson education, Ltd.

- Sikder, K., M. Sinha, N. Das, D. K. Das, S. Datta, dan S. Dey. 2013. Moringa oleifera leaf extract prevents in vitro oxidative dna damage. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 6(2):159-163.
- Silverthorn, D. U. 2010. *Human Physiology: An Integrated Approach*. Edisi 5. San Fransisco: Pearson Education, Inc.
- Singh, D., P. Arya, V. Aggarwal, dan R. Gupta. 2014. Evaluation of antioxidant and hepatoprotective activities of moringa oleifera lam. leaves in carbon tetrachloride-intoxicated rats. *Antioxidants*. 3(3):569–591.
- Singh, V. P., A. Bali, N. Singh, dan A. S. Jaggi. 2014. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 18(1):1-14.
- Stevens, G. C., K. P. Baiyeri, dan O. Akinagbe. 2012. Ethno-medicinal and culinary uses of Moringa oleifera Lam. in Nigeria. *Journal of Medicinal Plant Research*. 7(13):799-804.
- Sviglerova, J., J. Kuncova, dan M. Stengl. 2017. *Cardiovascular Models: Heart Secondarily Affected by Disease (Diabetes Mellitus, Renal Failure, Dysfunctional Sympathetic Innervation)*. Dalam Animal Models for the Study of Human Disease. Editor P. Michael Conn. Edisi 2. USA: Elsevier.
- Tsutsui, H., S. Kinugawa, S. Matsushima, dan T. Yokota. 2011. Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 48(1):68-71.
- Vergara-Jimenez, M., M. Almatrafi, dan M. Fernandez. 2017. Bioactive components in moringa oleifera leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*. 6(4):91-104.
- Wardani, D. N. K., Hendy H., dan Widjiati. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) terhadap Jumlah Sel Mast pada Mencit (*Mus musculus*) Model Endometriosis. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19(3):1-8.
- World Health Organization. 2018. Diabetes. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. [Diakses pada 30 September 2019].
- World Health Organization. 2018. *Noncommunicable Diseases Country Profiles 2018*. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization. 2019. Diabetes. <https://www.who.int/health-topics/diabetes>. [Diakses pada 20 November 2019].

Wu, Y., Y. Ding, Y. Tanaka, dan W. Zhang. 2014. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention. *International Journal of Medical Sciences*. 11(11):1185–1200.

Yakhchalian, N., N. Mohammadian, K. Hatami, H. Nosrati, dan N. Yousofvand. 2018. Hematological and serum biochemical analysis of streptozotocin-induced insulin dependent diabetes mellitus in male adult wistar rats. *Pharmacology and Toxicology*. 1-13.

Zhang, C., X. Lu, Y. Tan, B. Li, X. Miao, L. Jin, X. Shi, X. Zhang, L. Miao, X. Li, dan L. Cai. 2012. Diabetes-induced hepatic pathogenic damage, inflammation, oxidative stress, and insulin resistance was exacerbated in zinc deficient mouse model. *PLoS ONE*. 7(12):1-8.



### Lampiran 3.1 Pengenceran Ekstrak Daun Kelor

#### Pembuatan larutan stock (larutan E)

$$\begin{aligned}\text{Kebutuhan ekstrak dosis tertinggi (K5)} &= (250 \text{ g} \times 1.000 \text{ mg/kgBB}) \times 1.000 \text{ g} \\ &= 250 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kebutuhan ekstrak total (K5)} &= \text{kebutuhan ekstrak dosis tertinggi} \times \Sigma. \text{ hewan} \\ &= 250 \text{ mg} \times 4 \\ &= 1.000 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Pengencer larutan stock} &= \Sigma. \text{ hewan} \times \text{kapasitas lambung} \times 2 \\ &= 4 \times 2 \text{ ml} \times 2 \\ &= 16 \text{ ml}\end{aligned}$$

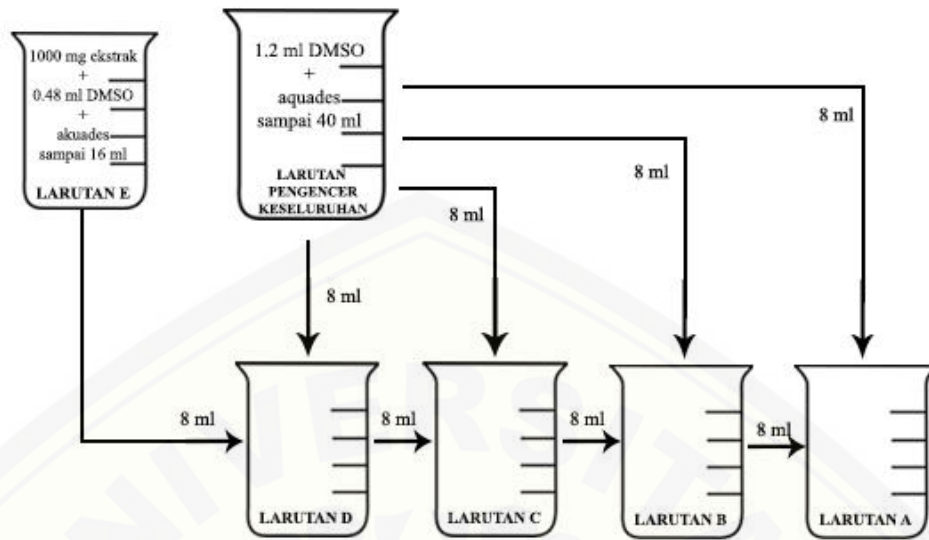
$$\begin{aligned}\text{Pelarut (DMSO) untuk pengencer larutan stock} &= 3\% \times 16 \text{ ml} \\ &= 0,48 \text{ ml}\end{aligned}$$

#### Pembuatan larutan pengencer untuk larutan A, larutan B, larutan C, larutan D, dan larutan kontrol (KN dan KN-)

$$\begin{aligned}\text{Larutan pengencer keseluruhan} &= 1/2 \text{ pengencer larutan stock} \times 5 \\ &= 8 \text{ ml} \times 5 \\ &= 40 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Pelarut (DMSO) untuk pengencer keseluruhan} &= 3\% \times 40 \text{ ml} \\ &= 1,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

**Pembuatan larutan A, larutan B, larutan C, larutan D, dan larutan kontrol (KN dan KN-) digambarkan dalam skema berikut:**



Untuk membuat larutan E (larutan stock), kebutuhan ekstrak total (K5) sebanyak 1.000 mg ekstrak dilarutkan dalam 0,48 ml DMSO, kemudian ditambahkan aquades hingga volumenya mencapai 16 ml. Selanjutnya, setengah dari volume larutan E diambil untuk membuat larutan D, sehingga larutan D terbentuk dari 8 ml larutan stock yang dilarutkan dalam 8 ml larutan pengencer keseluruhan. Selanjutnya, setengah dari larutan D diambil untuk membuat larutan C, sehingga larutan C terbentuk dari 8 ml larutan D yang dilarutkan dalam 8 ml larutan pengencer keseluruhan. Larutan B terbentuk dari 8 ml larutan C yang dilarutkan dalam 8 ml larutan pengencer keseluruhan. Larutan A terbentuk dari 8 ml larutan B yang dilarutkan dalam 8 ml larutan pengencer keseluruhan.



### Lampiran 3.2 SOP Pemeliharaan Hewan Coba

1. Tikus dipelihara dalam kandang yang terbuat dari plastik (misalnya *polypropylene, polycarbonate, polysulphone, poly etherimide*) dan dinding bak dengan *wire mesh*.
2. Ukuran kandang menurut *Cage Space Guidelines For Animals Used In Biomedical Research* (2008) untuk tikus dengan berat 100-200 gram yaitu: luas alas kandang 148,4 cm<sup>2</sup> dan tinggi 17,8 cm.
3. Ruang yang digunakan hendaknya memenuhi persyaratan suhu, kelembapan, cahaya, dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup tikus, yaitu suhu ruangan diatur menjadi  $22^{\circ} \pm 3^{\circ}$  C dengan kelembapan relatif 30-70%, dan penerangan 12 jam terang serta 12 jam gelap.
4. Ruang dan kandang harus selalu dijaga kebersihannya.
5. Tikus diberi pakan dan air sesuai standar laboratorium dan diberikan tanpa batas (*ad libitum*).
6. Selama periode aklimatisasi, tikus diamati dan ditimbang berat badannya untuk ditentukan apakah dapat masuk ke dalam kriteria inklusi atau eksklusi.

### Lampiran 3.3 SOP Penyondean Hewan Coba

1. Sebelum dilakukan penyondean, tikus terlebih dahulu dipuaskan 14-18 jam untuk mengosongkan lambung dan mengurangi risiko aspirasi.
2. Handling tikus dilakukan oleh personil yang terlatih untuk mengurangi stres pada hewan coba. Handling dilakukan dengan menggunakan alat perlindungan diri seperti sarung tangan dan jas laboratorium.
3. Seluruh tubuh tikus dipegang dengan lembut namun tegas serta meminimalkan gerakan hewan.
4. Tikus dipegang menggunakan tangan kiri, bagian kepalanya dijepit dengan jari tengah dan jari manis.
5. Kemudian posisi tikus dibalikkan sehingga telentang dengan posisi kedua jari tetap menjepit kepala tikus.
6. Sonde yang digunakan adalah sonde dengan ukuran 16-20G, dengan panjang 3,8-10 cm dan diameter bola 2,25-4 mm.
7. Sebelum melakukan penyondean, ukurlah jarak dari rongga mulut hingga ujung *processus xyphoideus* menggunakan sonde tersebut. Tandai jarak menggunakan spidol sebagai tanda seberapa dalam sonde harus dimasukkan ke dalam esophagus.
8. Isilah sonde dengan volume yang sesuai.
9. Posisikan tikus secara vertikal dan masukkan sonde sampai dengan tanda yang telah dibuat secara hati-hati dan cepat untuk mengurangi stres pada tikus.
10. Setelah itu, tikus dikembalikan ke dalam kandang. Pakan boleh diberikan kembali setelah 4 jam.

**Lampiran 3.4 SOP Induksi Streptozotocin pada Hewan Coba**

1. Sebelum diinduksi, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 4 jam untuk mengosongkan lambung dan mengurangi risiko aspirasi.
2. Hitung kebutuhan dosis induksi streptozotocin. Jika berat badan tikus 200 gram, maka kebutuhan dosis induksi adalah  $(200 \text{ gram} \times 45 \text{ mg/kgBB}) / 1000 \text{ gram} = 9 \text{ mg}$  per ekor.
3. Pembuatan larutan streptozotocin dilakukan oleh personil yang terampil dan dilakukan tepat sebelum akan diberikan kepada hewan coba.
4. Streptozotocin tidak dapat larut dalam air, sehingga harus diinjeksikan dalam bentuk suspensi menggunakan buffer sitrat 0,1 M dengan pH 4,5. Konsentrasi streptozotocin yang dibuat adalah 22,5 mg/ml.
5. Streptozotocin yang telah dilarutkan ke dalam buffer sitrat hanya mampu bertahan 15-30 menit.
6. Buffer sitrat dibuat terbuat dari campuran asam sitrat dan natrium sitrat yang ditambahkan akuades lalu dihomogenkan selama  $\pm 5$  menit.
7. Volume buffer sitrat yang dibutuhkan =  $9 \text{ mg} / 22,5 = 0,4 \text{ ml}$ .
8. Setelah homogen, ke dalam campuran tersebut ditambahkan 9 mg streptozotocin dan dihomogenkan kembali.
9. Segera injeksikan larutan streptozotocin yang telah disiapkan secara intraperitoneal.
10. Injeksi intraperitoneal dilakukan pada kuadran posterior abdomen tikus.
11. Tikus dipegang pada bagian punggungnya, jarum diinjeksikan di posisi bawah tekukan lutut dengan sudut  $45^\circ$ ; kiri atau kanan dari garis tengah. Hindari melakukan injeksi pada garis tengah untuk mencegah penetrasi ke dalam kandung kemih.
12. Setelah itu, tikus dimasukkan kembali ke dalam kandang dan berikan larutan dekstrosa 10% sepanjang malam pertama setelah induksi untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection*.
13. Ukur kadar glukosa darah tikus setelah 3 hari pemberian streptozotocin menggunakan glukometer.

**Lampiran 3.5 SOP Pemeriksaan Glukosa Darah Hewan Coba**

1. Pengambilan darah harus dilakukan oleh personil yang terlatih untuk meminimalkan rasa sakit dan stres.
2. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-3 setelah injeksi streptozotocin dilakukan.
3. Pengambilan darah dilakukan dengan cara memotong  $\pm$  1 cm ekor tikus menggunakan gunting.
4. Selanjutnya, pasang stik glukosa pada glukometer dan segera tampung darah yang keluar dari ekor tikus pada stik tersebut.
5. Tunggu beberapa saat dan glukometer akan menampilkan kadar glukosa darah tikus. Tikus dengan kadar glukosa darah  $\geq$  200 mg/dL dimasukkan ke dalam kriteria inklusi.

**Lampiran 3.6 SOP Pungsi Jantung, Terminasi, dan Pemusnahan Hewan Coba**

1. Pengambilan darah harus dilakukan oleh personil yang terlatih untuk meminimalkan rasa sakit dan stres.
2. Pengambilan darah dilakukan melalui metode pungsi jantung yang didahului dengan *euthanasia* hewan coba menggunakan anestesi inhalasi yaitu dietil eter di dalam sebuah tabung yang berisi kapas.
3. Setelah tikus terlihat mengalami penurunan kesadaran, tikus dikeluarkan dari dalam tabung.
4. Letakkan tikus di atas papan pembedahan dan fiksasi keempat kaki tikus menggunakan jarum pentul.
5. Tikus kemudian dibedah menggunakan gunting dari abdomen hingga thoraks sampai jantung tikus terlihat.
6. Masukkan spuit 5 cc pada ventrikel sampai spuit terisi + 3-4 cc darah, kemudian masukkan darah tersebut ke dalam tabung sentrifuge.
7. Setelah dilakukan terminasi, seluruh hewan coba yang mati dikremasi (dibakar) dan dikubur menjadi satu pada kedalaman 50 cm.

**Lampiran 3.7 SOP Pemeriksaan SGOT dan SGPT Hewan Coba**

1. Spesimen darah yang telah diambil secara intrakardiak didiamkan selama  $\pm 30$  menit lalu lakukan sentrifuge dengan kecepatan 5000-6000 rpm selama 5-10 menit hingga didapatkan serum sebagai sampel pemeriksaan biokimiawi.
2. Serum yang didapatkan kemudian dipindahkan ke dalam tabung *Eppendorf* menggunakan mikropipet.
3. Serum dan reagen dipertahakan dalam suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
4. Ambil  $100\ \mu\text{l}$  serum dan campur dengan  $1.000\ \mu\text{l}$  reagen 1 SGOT menggunakan vortex. Inkubasikan selama 5 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  menggunakan *waterbath*.
5. Selanjutnya, tambahkan  $250\ \mu\text{l}$  reagen 2 SGOT dan campur hingga homogen menggunakan vortex. Inkubasikan selama 1 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  menggunakan *waterbath*.
6. Kemudian, baca kadar SGOT serum menggunakan fotometer DTN 510k dengan panjang gelombang  $340\ \text{nm}$ .
7. Ulangi langkah 4-6 untuk mengukur kadar SGPT menggunakan reagen 1 dan 2 SGPT.

**Lampiran 3.8 Delegations of Duty**

1. dr. Suryono, Sp.JP.FIHA yang telah memberikan ide penelitian.
2. Giovani Gianosa, Miranda Dewi, Athiyah Fi Ramadhani, Rizky Trisepta Multazam, dan Ni Luh Putu Dinda Rahayu Dermana yang telah membantu merawat tikus dan mempersiapkan segala keperluan penelitian.
3. Lilik Maslian, A.Md. yang telah membantu melakukan injeksi, penyondean, dan terminasi hewan coba.
4. Nurul Istinaroh, S.P. yang telah membantu membuat buffer sitrat.
5. Sony Kristanti Ningrum, A.Md. yang telah membantu melakukan pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT hewan coba.

**Lampiran 3.9 Tabel Dosis Streptozotocin**

Kelompok	Nomor perlakuan	Berat badan pre injeksi (g)	Kadar glukosa darah pre injeksi (mg/dL)	Dosis Streptozotocin (45 mg/kgBB)	Volume yang diinjeksikan dalam buffer sitrat (mL)
KN	1	220	101	-	0,5
	2	250	83	-	0,5
	3	230	83	-	0,5
	4	230	70	-	0,5
	5	220	92	-	0,5
KN-	1	230	93	10,35	0,46
	2	250	88	11,25	0,5
	3	210	106	9,45	0,42
	4	200	109	9	0,4
K1	1	250	88	11,25	0,5
	2	230	73	10,35	0,46
	3	210	73	9,45	0,42
	4	220	78	9,9	0,44
K2	1	250	114	11,25	0,5
	2	220	103	9,9	0,44
	3	200	90	9	0,4
	4	230	93	10,35	0,46
K3	1	230	96	10,35	0,46
	2	250	88	11,25	0,5
	3	200	104	9	0,4
	4	200	83	9	0,4
K4	1	200	78	9	0,4
	2	200	107	9	0,4
	3	220	73	9,9	0,44
	4	240	95	10,8	0,48
	5	260	87	11,7	0,52
K5	1	240	94	10,8	0,48
	2	260	91	11,7	0,52
	3	220	107	9,9	0,44
	4	250	110	11,25	0,5



**Lampiran 3.10 Tabel Dosis Pemberian Ekstrak Daun Kelor**

Kelompok	No. perlakuan	Berat badan post injeksi (g)	Kadar glukosa darah post injeksi (mg/dL)	Dosis Ekstrak Daun Kelor (mg)	Volume yang diinjeksikan (mL)
KN	1	220	86	-	1,76
	2	230	79	-	1,84
	3	240	94	-	1,92
	4	240	87	-	1,92
	5	200	76	-	1,6
KN-	1	190	HIGH	-	1,52
	2	210	567	-	1,68
	3	190	542	-	1,52
	4	170	456	-	1,36
K1	1	210	550	13,13	1,68
	2	200	594	12,5	1,6
	3	170	303	10,63	1,36
	4	180	HIGH	11,25	1,44
K2	1	210	467	26,25	1,68
	2	200	HIGH	25	1,6
	3	190	HIGH	23,75	1,52
	4	200	542	25	1,6
K3	1	180	337	45	1,44
	2	230	504	57,5	1,84
	3	150	HIGH	37,5	1,2
	4	180	HIGH	45	1,44
K4	1	180	559	90	1,44
	2	160	HIGH	80	1,28
	3	190	444	95	1,52
	4	220	482	110	1,76
	5	230	531	115	1,84
K5	1	210	HIGH	210	1,68
	2	220	HIGH	220	1,76
	3	200	347	200	1,6
	4	220	HIGH	220	1,76

Lampiran 3.11 Dokumentasi Penelitian



Adaptasi hewan coba



Pembuatan ekstrak daun kelor



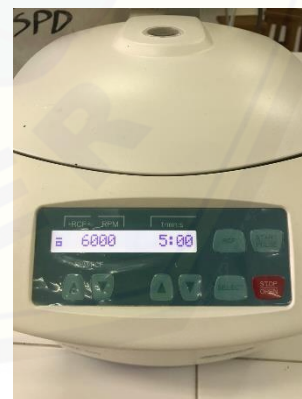
Penyondean ekstrak



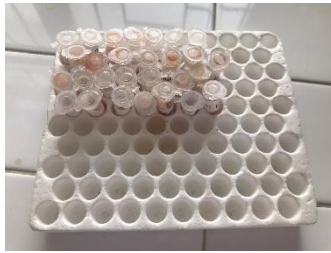
Terminasi hewan coba



Pengambilan darah dari jantung



Sentrifuge darah untuk mendapatkan serum



Serum hewan coba



Reagen SGOT dan SGPT



Pencampuran reagen SGOT dan SGPT dengan serum



Pengukuran kadar SGOT dan SGPT menggunakan fotometer

## Lampiran 3.12 Keterangan Persetujuan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMITE ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember  
68121 – Email : fk\_unej@telkom.net

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVA*

Nomor : t. 373 /H25.1.11/KE/2020

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa aleifera Lamk.*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT TIKUS MODEL DIABETES YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

Nama Peneliti Utama : Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 162010101002

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 29 JANUARI 2020  
Komisi Etik Penelitian  
  
Riyanti, Sp.PK

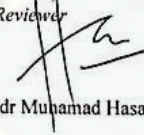
**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

- Perlakuan pada hewan coba, harus memperhatikan prinsip 3R & 5F
- Mohon dilengkapi SOP; al:
  - SOP handling / perawatan hewan coba
  - SOP penyedotan, injeksi Intra peritoneal
  - SOP pemeriksaan SGOT, SGPT dan pemeriksaan glukosa.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah biologis.
- Mohon di tulisiskan di proposal tata cara penunahan hewan coba.



Jember,  
Reviewer

  
dr. Muhammad Hasan, M.Kes., Sp.OT

**Tanggapan Anggota Komisi Etik**


(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

*Review Proposal* :

- 1) Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R: *Replacement, Reduce, Refinement*).
- 2) Perlakuan dengan injeksi intraperitoneal dan pengambilan darah dari sinus orbitalis dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan dengan cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba).
- 3) Harap diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak daun kelor agar didapatkan kadar yang diinginkan.
- 4) Mohon diperhatikan kontrol kualitas reagen dan kalibrasi alat untuk pemeriksaan SGOT/SGPT.
- 5) Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui  
Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 24 Januari 2020  
Reviewer

  
dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

## Lampiran 3.13 Hasil Determinasi Spesies Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
 Jln. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Kotak Pos 159 Jember 68121  
 Telp. (0331) 334293 Fax (0331) 330225

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No. 06 /2020

Ketua Laboratorium Botani Jurusan Biologi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh:

Nama : Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya  
 NIP/NRP/NIK/NIM : 162010101002  
 Institusi asal : Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

telah diidentifikasi/determinasi pada tanggal 07 Pebruari 2020 berdasarkan Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen Van Den Brink Jr. (1963), Volume I, halaman 185-186 adalah:

No.	Genus	Species	Famili
1.	Moringa	<i>Moringa oleifera</i> Lmk.	Moringaceae

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 07 Januari 2020

Ketua Laboratorium Botani

Dra. Dwi Setyati, M.Si.

NIP. 196404171991032001

Determined by Dra. Dwi Setyati. M.Si

## Lampiran 3.14 Rekomendasi Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Alamat : Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto. Kotak Pos Jember 68121  
Telp/Fax. (0331) 337877, 324446, \*Faksimili (0331) 337877  
E mail : fk@unej.ac.id/Laman//www.fk.unej.ac.id

SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 621 /UN25.1.11/PT/2020

Komisi Bimbingan KTI dan Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember di bawah ini:

Nama : Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya  
NIM. : 162010101002  
Angkatan : 2016

Judul Skripsi : Efek Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Model Diabetes yang Diinduksi *Streptozotocin*

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan “ Bebas Plagiasi “

Demikian surat rekomendasi ini, atas perhatian saudara kami mengucapkan terima kasih.



Dr. Anisah Caesarina Novi M. Ph.D  
NIP. 19820309 200812 2 002

18 FEB 2020

Komisi Bimbingan KTI & Publikasi  
Ketua,

Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes  
NIP. 19740604 200112 2 002



**Lampiran 4.1 Hasil Pemeriksaan Kadar SGOT Tikus**

Kelompok	Nomor perlakuan	Kadar SGOT (U/L)	Rata-rata Kadar SGOT (U/L) $\pm$ SD
KN	1	34,60	38,26 $\pm$ 3,57
	2	38,47	
	3	32,39	
	4	40,24	
	5	45,62	
KN-	1	151,98	149,09 $\pm$ 2,93
	2	150,14	
	3	145,05	
	4	149,17	
K1	1	113,98	109,40 $\pm$ 4,70
	2	112,44	
	3	103,72	
	4	107,46	
K2	1	107,81	114,07 $\pm$ 4,90
	2	118,68	
	3	112,64	
	4	117,17	
K3	1	95,62	86,67 $\pm$ 7,40
	2	86,96	
	3	77,48	
	4	86,63	
K4	1	90,00	87,32 $\pm$ 4,41
	2	81,55	
	3	91,56	
	4	86,92	
	5	86,57	
K5	1	68,22	65,02 $\pm$ 10,28
	2	77,51	
	3	60,92	
	4	53,44	

**Lampiran 4.2 Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT Tikus**

Kelompok	Nomor perlakuan	Kadar SGPT (U/L)	Rata-rata Kadar SGPT (U/L) $\pm$ SD
KN	1	37,76	41,71 $\pm$ 3,98
	2	38,13	
	3	44,01	
	4	45,50	
	5	43,16	
KN-	1	86,20	78,53 $\pm$ 8,43
	2	79,02	
	3	82,23	
	4	66,68	
K1	1	84,20	74,01 $\pm$ 7,05
	2	69,89	
	3	68,77	
	4	73,16	
K2	1	68,83	69,36 $\pm$ 5,48
	2	77,13	
	3	67,00	
	4	64,49	
K3	1	64,92	59,72 $\pm$ 7,68
	2	56,23	
	3	50,61	
	4	67,13	
K4	1	51,46	53,74 $\pm$ 3,64
	2	57,42	
	3	56,25	
	4	49,92	
	5	53,64	
K5	1	41,62	46,53 $\pm$ 6,67
	2	54,32	
	3	49,81	
	4	40,37	

### Lampiran 4.3 Hasil Analisis Statistik

#### Uji Normalitas SGOT

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KN	.216	4	.	.951	4	.721
KN-	.262	4	.	.940	4	.657
SGOT K1	.241	4	.	.937	4	.637
K2	.236	4	.	.938	4	.642
K3	.248	4	.	.952	4	.731
K4	.214	4	.	.934	4	.620
K5	.155	4	.	.994	4	.978

a. Lilliefors Significance Correction

#### Uji Homogenitas Varian Data SGOT

##### Test of Homogeneity of Variances

Kadar SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.452	6	21	.243

#### Uji One Way ANOVA SGOT

##### ANOVA

Kadar SGOT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31643.501	6	5273.917	149.130	.000
Within Groups	742.657	21	35.365		
Total	32386.158	27			

## Analisis Post Hoc LSD SGOT

## Multiple Comparisons

Kadar SGOT

LSD

(I) nama	(J) nama	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol normal	Kontrol negatif	-112.65850*	4.20503	.000	-121.4033	-103.9137
	K1	-72.97225*	4.20503	.000	-81.7171	-64.2274
	K2	-77.64600*	4.20503	.000	-86.3908	-68.9012
	K3	-50.24650*	4.20503	.000	-58.9913	-41.5017
	K4	-51.08000*	4.20503	.000	-59.8248	-42.3352
	K5	-28.59600*	4.20503	.000	-37.3408	-19.8512
Kontrol negatif	Kontrol normal	112.65850*	4.20503	.000	103.9137	121.4033
	K1	39.68625*	4.20503	.000	30.9414	48.4311
	K2	35.01250*	4.20503	.000	26.2677	43.7573
	K3	62.41200*	4.20503	.000	53.6672	71.1568
	K4	61.57850*	4.20503	.000	52.8337	70.3233
	K5	84.06250*	4.20503	.000	75.3177	92.8073
K1	Kontrol normal	72.97225*	4.20503	.000	64.2274	81.7171
	Kontrol negatif	-39.68625*	4.20503	.000	-48.4311	-30.9414
	K2	-4.67375	4.20503	.279	-13.4186	4.0711
	K3	22.72575*	4.20503	.000	13.9809	31.4706
	K4	21.89225*	4.20503	.000	13.1474	30.6371
	K5	44.37625*	4.20503	.000	35.6314	53.1211
K2	Kontrol normal	77.64600*	4.20503	.000	68.9012	86.3908
	Kontrol negatif	-35.01250*	4.20503	.000	-43.7573	-26.2677
	K1	4.67375	4.20503	.279	-4.0711	13.4186
	K3	27.39950*	4.20503	.000	18.6547	36.1443
	K4	26.56600*	4.20503	.000	17.8212	35.3108
	K5	49.05000*	4.20503	.000	40.3052	57.7948
K3	Kontrol normal	50.24650*	4.20503	.000	41.5017	58.9913

	Kontrol negatif	-62.41200*	4.20503	.000	-71.1568	-53.6672
	K1	-22.72575*	4.20503	.000	-31.4706	-13.9809
	K2	-27.39950*	4.20503	.000	-36.1443	-18.6547
	K4	-.83350	4.20503	.845	-9.5783	7.9113
	K5	21.65050*	4.20503	.000	12.9057	30.3953
K4	Kontrol normal	51.08000*	4.20503	.000	42.3352	59.8248
	Kontrol negatif	-61.57850*	4.20503	.000	-70.3233	-52.8337
	K1	-21.89225*	4.20503	.000	-30.6371	-13.1474
	K2	-26.56600*	4.20503	.000	-35.3108	-17.8212
	K3	.83350	4.20503	.845	-7.9113	9.5783
	K5	22.48400*	4.20503	.000	13.7392	31.2288
K5	Kontrol normal	28.59600*	4.20503	.000	19.8512	37.3408
	Kontrol negatif	-84.06250*	4.20503	.000	-92.8073	-75.3177
	K1	-44.37625*	4.20503	.000	-53.1211	-35.6314
	K2	-49.05000*	4.20503	.000	-57.7948	-40.3052
	K3	-21.65050*	4.20503	.000	-30.3953	-12.9057
	K4	-22.48400*	4.20503	.000	-31.2288	-13.7392

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Uji Normalitas SGPT**

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KN	.291	4	.	.834	4	.178
KN-	.273	4	.	.913	4	.498
K1	.298	4	.	.834	4	.179
K2	.289	4	.	.899	4	.424
K3	.251	4	.	.925	4	.564
K4	.253	4	.	.894	4	.401
K5	.269	4	.	.898	4	.422

a. Lilliefors Significance Correction

**Uji Homogenitas SGPT**

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.772	6	21	.600

**Uji One Way ANOVA SGPT**

**ANOVA**

ANOVA					
Kadar SGPT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4776.259	6	796.043	19.669	.000
Within Groups	849.929	21	40.473		
Total	5626.188	27			

## Analisis Post Hoc LSD SGPT

## Multiple Comparisons

Kadar SGPT

LSD

(I) nama	(J) nama	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol normal	Kontrol negatif	-37.18450*	4.49849	.000	-46.5396	-27.8294
	K1	-32.65800*	4.49849	.000	-42.0131	-23.3029
	K2	-28.01450*	4.49849	.000	-37.3696	-18.6594
	K3	-18.37575*	4.49849	.001	-27.7309	-9.0206
	K4	-12.41375*	4.49849	.012	-21.7689	-3.0586
	K5	-5.18275	4.49849	.262	-14.5379	4.1724
Kontrol negatif	Kontrol normal	37.18450*	4.49849	.000	27.8294	46.5396
	K1	4.52650	4.49849	.326	-4.8286	13.8816
	K2	9.17000	4.49849	.054	-.1851	18.5251
	K3	18.80875*	4.49849	.000	9.4536	28.1639
	K4	24.77075*	4.49849	.000	15.4156	34.1259
	K5	32.00175*	4.49849	.000	22.6466	41.3569
K1	Kontrol normal	32.65800*	4.49849	.000	23.3029	42.0131
	Kontrol negatif	-4.52650	4.49849	.326	-13.8816	4.8286
	K2	4.64350	4.49849	.314	-4.7116	13.9986
	K3	14.28225*	4.49849	.005	4.9271	23.6374
	K4	20.24425*	4.49849	.000	10.8891	29.5994
	K5	27.47525*	4.49849	.000	18.1201	36.8304
K2	Kontrol normal	28.01450*	4.49849	.000	18.6594	37.3696
	Kontrol negatif	-9.17000	4.49849	.054	-18.5251	.1851
	K1	-4.64350	4.49849	.314	-13.9986	4.7116
	K3	9.63875*	4.49849	.044	.2836	18.9939
	K4	15.60075*	4.49849	.002	6.2456	24.9559
	K5	22.83175*	4.49849	.000	13.4766	32.1869
K3	Kontrol normal	18.37575*	4.49849	.001	9.0206	27.7309

	Kontrol negatif	-18.80875*	4.49849	.000	-28.1639	-9.4536
	K1	-14.28225*	4.49849	.005	-23.6374	-4.9271
	K2	-9.63875*	4.49849	.044	-18.9939	-.2836
	K4	5.96200	4.49849	.199	-3.3931	15.3171
	K5	13.19300*	4.49849	.008	3.8379	22.5481
K4	Kontrol normal	12.41375*	4.49849	.012	3.0586	21.7689
	Kontrol negatif	-24.77075*	4.49849	.000	-34.1259	-15.4156
	K1	-20.24425*	4.49849	.000	-29.5994	-10.8891
	K2	-15.60075*	4.49849	.002	-24.9559	-6.2456
	K3	-5.96200	4.49849	.199	-15.3171	3.3931
	K5	7.23100	4.49849	.123	-2.1241	16.5861
K5	Kontrol normal	5.18275	4.49849	.262	-4.1724	14.5379
	Kontrol negatif	-32.00175*	4.49849	.000	-41.3569	-22.6466
	K1	-27.47525*	4.49849	.000	-36.8304	-18.1201
	K2	-22.83175*	4.49849	.000	-32.1869	-13.4766
	K3	-13.19300*	4.49849	.008	-22.5481	-3.8379
	K4	-7.23100	4.49849	.123	-16.5861	2.1241

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.