

# AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE TIKUS DIABETES YANG DIBERI EKSTRAK DAUN KAPULAGA *Amomum cardamomum*

PUTRI EKA SARI<sup>1</sup>, SORTA BASAR IDA SIMANJUNTAK<sup>1</sup>, HERY WINARSI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 53122

<sup>2</sup> Jurusan Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman

## ABSTRACT

Diabetes is a disease characterized by abnormal insulin secretion, production, and insulin resistance. This condition cause oxidative stress which produce radical anion superoxide and decrease superoxide dismutase (SOD) activity. SOD is an antioxidant enzyme that can reduces anion superoxide which caused by diabetes. Many natural medicine are believed having the capacity to improve antioxidant status in the body. Cardamom's leaf was reported containing flavonoids and vitamin C has been proven as in vitro antioxidant. However, there is no data that shows in vivo potency. This study was aimed to know the SOD activity of diabetic rats after treatment of cardamom's leaf extract. This research used experimental method consist 2 treatment and 5 repetitions. First treatment was diabetic rats given a dose of 100mg/kg body mass of cardamom's leaf extract (CLE) and second treatment was diabetic rats without CLE as control every day for 21 days. Blood sampling was performed 4 times: 0, 7, 14, 21 after treatment. Parameter measured were inhibition of ferricytokrom C reduction. Data were analyzed using unpaired t test. The result showed the highest SOD activity was 506.60 U/mg protein ( $P < 0.01$ ) in diabetic rats for 14 days CLE. The conclusions of this research are SOD activity increased after 14 days treatment of cardamom's leaf extract.

KEY WORDS: cardamom's leaf extract (CLE), superoxide dismutase, diabetic-rats

Penulis korespondensi: PUTRI EKA SARI | email: [putri.eksa@gmail.com](mailto:putri.eksa@gmail.com)

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit yang ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi (hiperglikemia) karena produksi, sekresi, atau resistensi insulin terganggu (Widowati, 2008). Penyakit ini bersifat kronik karena dapat menyebabkan hipertensi, stroke, jantung, gagal ginjal dan kerusakan sistem saraf. Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO) penderita DM di Indonesia jumlahnya meningkat setiap tahun. Tahun 2003 jumlah penderita DM 13.797.470 jiwa, tahun 2005 meningkat menjadi 24 juta orang dan jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat (Soegondo, 2005).

Penderita DM mempunyai kecenderungan untuk terjadi stres oksidatif, peningkatan stres oksidatif berkaitan dengan hiperglikemia. Kondisi stress oksidatif yang disebabkan radikal bebas ini memerlukan ketersediaan antioksidan dalam jumlah yang cukup, sehingga dapat mengurangi kerusakan akibat radikal bebas (Wiyono, 2003). Oleh karena itu dibutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh untuk membantu menangkal radikal bebas dalam tubuh. Penggunaan obat anti diabetes biasanya dapat menimbulkan efek samping seperti hipoglikemia dan disfungsi ginjal (Nathan *et al.*, 2008). Oleh karena itu, diperlukan suatu alternatif pengobatan alami dengan harga relatif murah dan mempunyai khasiat tidak berbeda jauh dengan obat sintetik. Salah satu alternatif pengobatan adalah menggunakan obat tradisional yang berasal dari tanaman misalnya penggunaan tanaman kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang berfungsi sebagai antioksidan.

Winarsi *et al.* (2012) dalam penelitiannya melaporkan bahwa daun kapulaga mengandung flavonoid sebesar 129.6 mg/g ekstrak dan vitamin C sebesar 19 mg. Aktivitas enzim superoksida

dismutase pada penderita diabetes mengalami penurunan yang diakibatkan oleh banyaknya radikal bebas (Wiyono, 2003). Devi *et al.* (2012) menambahkan bahwa aktivitas enzim superoksida dismutase dalam mereduksi radikal anion superoksida oleh kapulaga lebih tinggi dibandingkan dengan *Syzygium aromaticum* dan *Piper nigrum*.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas enzim superoksida dismutase tikus diabetes yang diberi ekstrak daun kapulaga. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai aktivitas enzim superoksida dismutase tikus diabetes setelah diberi ekstrak daun kapulaga dan dapat digunakan sebagai bahan acuan pemanfaatan daun kapulaga untuk penderita diabetes melitus.

## METODE

Materi Penelitian terdiri dari bahan dan alat. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Sprague dawley jantan yang diperoleh dari Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM Yogyakarta, plasma darah tikus diabetes, daun kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang diperoleh dari Desa Ciberem Kecamatan Sumbang Purwokerto, xantin oksidase, larutan stok superoksida dismutase, dan aloksan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rotary evaporator, feeding tube/sonde lambung, spuit, multichcek glucose (Nesco), sentrifus dan tabung eppendorf.

Pemeliharaan tikus, induksi diabetes, dan pengambilan plasma darah dilakukan di Rumah Hewan Percobaan Fakultas Biologi dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Soedirman. Pengukuran aktivitas enzim Superoksida Dismutase dilakukan di Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Penelitian dilakukan dari bulan Oktober 2012 hingga Februari 2013.

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental, yang terdiri atas 2 perlakuan dan 5 kali ulangan. Hewan uji terdiri

dari 10 ekor tikus putih Sprague dawley dengan rentang berat 250–300 gram dibagi menjadi 2 perlakuan yaitu perlakuan I, tikus diabetes diberi ekstrak daun kapulaga dengan dosis 100 mg/kg bb; perlakuan II, tikus diabetes tanpa diberi ekstrak daun kapulaga. Ekstrak daun kapulaga diberikan sehari sekali pada pagi hari secara oral. Masing-masing perlakuan terdiri atas 5 ekor tikus. Perlakuan diberikan selama 21 hari. Sampel darah diambil saat tikus diabetes dan setiap 7 hari setelah perlakuan ekstrak daun kapulaga kemudian dilanjutkan dengan pengukuran aktivitas enzim superoksida dismutase. Variabel penelitian ini adalah variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebas berupa pemberian ekstrak daun kapulaga 100 mg/kg bb, sedangkan variabel tergantung berupa aktivitas enzim Superoksida Dismutase. Parameter yang diukur adalah penghambatan reduksi ferrisitokrom C.

Pembuatan ekstrak daun kapulaga menurut Winarsi, *et al.* (2012), daun kapulaga dipotong-potong dengan ukuran 0,5–1 cm kemudian dikeringkan secara tidak langsung dibawah sinar matahari selama 10–15 hari. Daun kapulaga kering digiling menggunakan blender untuk dijadikan tepung, setelah itu direndam dengan etanol 96% selama 24 jam selanjutnya disaring. Penyaringan tersebut menghasilkan filtrat dan endapan. Perendaman selama 24 jam dengan etanol 96% dilakukan sebanyak tiga kali. Filtrat yang dihasilkan dikumpulkan menjadi satu, kemudian diuapkan dengan rotary evaporator hingga didapatkan endapan pekat yang disebut ekstrak daun kapulaga.

Penginduksian tikus diabetes menurut Kim *et al.* (2006), tikus *Sprague dawley* jantan dipuasakan selama 24 jam kemudian diinjeksi dengan aloksan monohidrat yang dilarutkan dalam larutan NaCl fisiologis steril dengan dosis 120 mg/kg bobot badan secara intraperitoneal. Pemberian ekstrak daun kapulaga dimana sebelumnya dilarutkan dalam aquabides, kemudian diberikan secara oral (disonde) dengan dosis 100 mg/kg bb tikus. Air dan pelet standar diberikan secara ad libitum selama masa percobaan. Tikus sebanyak 10 ekor dibagi menjadi 2 perlakuan yaitu perlakuan I, tikus diabetes diberi ekstrak daun kapulaga dengan dosis 100 mg/kg bb; perlakuan II, tikus diabetes tanpa diberi ekstrak daun kapulaga. Pemberian ekstrak daun kapulaga dilakukan selama 21 hari.

Pengukuran aktivitas enzim superoksida dismutase dengan cara dibuat larutan standar SOD murni komersial dari larutan stok sehingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan sebagai berikut: 250, 500 dan 1000 unit/ml H<sub>2</sub>O. Dibaca serapannya pada panjang gelombang 550 nm dengan spektrofotometer kemudian digunakan untuk membuat lautan kurva standar SOD dengan persamaan regresi linier  $Y = ax + b$  (Castenmiller *et al.*, 1999).

Adapun tahapan pengukuran Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase adalah sebagai berikut: medium reaksi disiapkan sebelum pengukuran dengan memasukkan 2,9 ml larutan A (campuran larutan xantin [0,76 mg xantin dilarutkan dalam 100 ml 0,001 NaOH] dan larutan sitokrom c [1,8 mg sitokrom c dalam 100 ml buffer fosfat pH 7,8 tanpa EDTA]) kedalam tabung reaksi 3 ml. Ditambahkan 50 µl larutan baku (kontrol) atau sampel dan divorteks perlahan-lahan. Ditambahkan 50 µl larutan B (xantin oksidase 2,88 mg/ml dalam buffer fosfat EDTA) divorteks perlahan-lahan. Blanko dibuat dengan menggunakan 2,9 ml larutan A ditambah 50 µl buffer fosfat SOD, kemudian ditambah 50 µl larutan B dan kemudian divorteks perlahan-lahan. Semua kontrol maupun sampel diinkubasi pada suhu kamar selama 30 detik kemudian dihitung absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV (Tipe Shimidzu UV-Visible 1601) pada panjang gelombang 550 nm.

$$\text{Perhitungan } X = \frac{(y-b)}{a} \times df$$

Keterangan:

X = Kadar enzim (Unit/ml)

df = Faktor pengenceran

Y = nilai absorbansi A550 nm

B = intercept a=slope

Aktivitas SOD diukur berdasar laju penghambatan reduksi ferrisitokrom c oleh anion superoksida yang dihasilkan oleh xantin/xantin oksidase. Terjadi oksidasi xantin menjadi asam urat, dan anion superoksida terbentuk yang selanjutnya mereduksi ferrisitokrom c. Reduksi ferrisitokrom c diamati berdasar kenaikan absorbansi pada panjang gelombang 550 nm. Aktivitas SOD dapat dilihat sebagai aktivitas SOD per miligram protein, dengan membagi kadar SOD (U/ml) dengan konsentrasi protein (mg/ml) sehingga aktivitas SOD dinyatakan dalam U/mg protein (Oxis Reasearch, 2001).

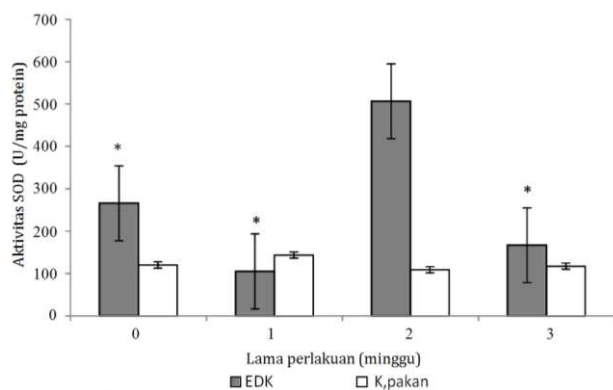
Pengukuran kadar protein menggunakan metode Bradford. Dibuat larutan standar protein dengan menimbang 0.01 g BSA (*Bovine Serum Albumin*) yang kemudian dilarutkan dengan 10 ml H<sub>2</sub>O sehingga diperoleh larutan stok BSA dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm diencerkan dengan melarutkan 0.5 ml larutan stok ditambahkan 4.5 ml H<sub>2</sub>O sehingga diperoleh larutan stok BSA 100 ppm. Dilakukan pengukuran standar protein dari larutan stok tersebut dengan berbagai macam konsentrasi, setelah itu dilakukan pengukuran standar protein dengan menambahkan 0.1 ml seri larutan standar dengan 5 ml reagen Bradford. Larutan kemudian divortex, larutan ini akan menimbulkan warna biru dan dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menambahkan 8µl supernatan dari sampel dengan 80 µl reagen Biorad dan 321 µl aquabides kemudian divortex dan dibaca pada panjang gelombang 595 nm, sampel yang akan dibaca diinkubasi pada suhu kamar selama 30 detik (Bradford, 1976).

Data aktivitas enzim superoksida dismutase yang diperoleh dianalisis menggunakan uji statistik parametrik uji t tidak berpasangan dengan program komputer IBM SPSS Statistics 19.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) plasma sebelum pemberian ekstrak daun kapulaga (EDK) sebesar 265.7 U/mg protein, dan yang tidak diberi ekstrak daun kapulaga (kontrol) aktivitasnya 120.3 U/mg protein, tidak berbeda ( $P > 0.05$ ). Artinya bahwa antar kedua kelompok tikus adalah homogen, sehingga apabila terjadi perubahan selama percobaan merupakan pengaruh dari perlakuan yang diberikan. setelah satu minggu adalah 105.02 U/mg protein untuk kelompok tikus yang diberi EDK, sedangkan kelompok tikus yang tidak diberi EDK sebesar 143.38 U/mg protein. Hasil ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan ( $P > 0.05$ ). Kemungkinan tikus yang diberi EDK belum mampu merespon dengan optimal. Setelah dua minggu perlakuan aktivitas SOD plasma untuk tikus yang diberi ekstrak daun kapulaga adalah 506.60 U/mg protein, sedangkan tikus yang tidak diberi ekstrak daun kapulaga memiliki aktivitas SOD sebesar 108.85 U/mg protein. Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $P < 0.01$ ) bahwa aktivitas enzim

SOD mengalami peningkatan secara nyata. Namun demikian, setelah tiga minggu perlakuan aktivitas SOD plasma untuk kelompok tikus diabetes yang diberi ekstrak daun kapulaga menurun menjadi 166.76 U/mg protein, sedangkan tikus diabetes yang tidak diberi ekstrak daun kapulaga 117.33 U/mg protein (Gambar 1), tidak terdapat perbedaan ( $P>0.05$ ).



**Gambar 1.** Aktivitas SOD selama perlakuan

Keterangan: \*= $p>0.05$  (tidak berbeda nyata), \*\*= $p<0.05$  (berbeda nyata) dan \*\*\*= $p<0.01$  (berbeda sangat nyata)

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan aktivitas SOD setelah pemberian ekstrak daun kapulaga yang mengandung senyawa flavonoid. Demikian pula pada penelitian yang dilakukan oleh Chis *et al.* (2009) juga membuktikan bahwa flavonoid mampu meningkatkan status antioksidan pada tikus diabetes. Morakinyo *et al.* (2011) meyakinkan bahwa aktivitas enzim superoksida dismutase tikus diabetes yang diberi ekstrak etanol *Zingiber officinale* dengan dosis 200 mg/kg bb sebesar 1.3 U/mg protein dan pemberian dengan dosis 500 mg/kg bb sebesar 1.4 U/mg protein, sedangkan pada tikus diabetes kontrol aktivitasnya adalah 0.8 U/mg protein. Hal tersebut memperlihatkan bahwa aktivitas SOD pada tikus diabetes diberi ekstrak etanol jahe (*Z. officinale*) lebih tinggi dibandingkan dengan tikus diabetes kontrol. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol jahe (*Z. officinale*) dapat meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase (Al-Katib *et al.*, 2009; Morakinyo *et al.*, 2011). Sridivya *et al.* (2010) menambahkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas SOD pada tikus diabetes yang diberi ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*). Terjadinya peningkatan aktivitas SOD kemungkinan karena terdapat flavonoid dalam ekstrak daun kapulaga. Kapulaga yang termasuk dalam familia Zingiberaceae memiliki kemampuan untuk meningkatkan aktivitas SOD karena kandungan flavonoidnya, sama seperti jahe dan lengkuas yang juga dapat melakukan hal tersebut.

Lu *et al.* (2010) dalam penelitiannya melaporkan aktivitas SOD tikus diabetes yang diberi ekstrak daun *Litsea coreana* sebesar 101.90 U/mg protein lebih tinggi dibandingkan dengan tikus diabetes tanpa perlakuan sebesar 62.96 U/mg protein. El-Beshbshy (2005) menambahkan bahwa aktivitas SOD pada tikus stres oksidatif lebih rendah dibandingkan dengan

tikus stres oksidatif yang diberi ekstrak teh hijau. Hal serupa juga disampaikan oleh Pattabiraman dan Muthukumaran (2011) bahwa pemberian ekstrak mengkudu (*Morinda tinctoria*) dengan dosis 300 mg/kg bb dapat meningkatkan aktivitas SOD tikus diabetes sebesar 18.34 U/mg protein lebih tinggi dibandingkan tikus diabetes tanpa pemberian ekstrak mengkudu (*M. tinctoria*) sebesar 15.63 U/mg protein. Baik *Litsea coreana*, *Morinda tinctoria* dan teh hijau mengandung flavonoid, sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase pada tikus diabetes (Lu *et al.*, 2010; El-Beshbshy, 2005; Pattabiraman dan Muthukumaran, 2011).

Flavonoid bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan ion hidrogen (Sugihara *et al.*, 2001; Amic *et al.*, 2003), dan sebagai scavenger radikal bebas yang terbentuk selama terjadi peroksidasi lipid (Nijveldt *et al.*, 2001; Devisov dan Afanas'ev, 2005). Mekanisme kerja antioksidan flavonoid menurut Aylindania (2007) dengan cara menekan pembentukan radikal bebas, yaitu melalui penghambatan enzim, pengkelatan ion logam (metal ion chelating) yang terlibat dalam produksi radikal bebas serta meredam radikal bebas yang telah terbentuk. Firuzi *et al.* (2005) menambahkan bahwa flavonoid dapat menghambat kerja enzim pembentuk radikal bebas.

Selain flavonoid, daun kapulaga juga mengandung vitamin C sebesar 19 mg/g ekstrak (Winarsi *et al.*, 2012) yang dapat membantu meningkatkan status antioksidan di dalam tubuh dengan menetralkan radikal bebas. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas enzim superoksida dismutase tikus diabetes. Sesuai dengan penelitian Day & Lal (2012) pemberian vitamin C mampu meningkatkan aktivitas SOD sebesar 6.46 U/mg protein lebih tinggi dibandingkan dengan tikus diabetes tanpa perlakuan. Peran vitamin C dapat melindungi molekul-molekul yang sangat diperlukan oleh tubuh, seperti protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat dari kerusakan radikal bebas dan ROS yang disebabkan oleh stres oksidatif (Arifin *et al.*, 2007). Sadi *et al.* (2007) dalam percobaannya membuktikan bahwa vitamin C dapat meningkatkan status antioksidan tikus diabetes.

Efek negatif radikal bebas dijelaskan oleh Janson *et al.* (2011) disebabkan oleh kejadian stres oksidatif pada tubuh tikus, tetapi efeknya dapat dicegah oleh antioksidan vitamin C. Antioksidan tersebut bereaksi dengan berbagai macam ROS yang ada dalam darah atau sel yaitu dengan mendonorkan elektronnya untuk radikal bebas tersebut. Vitamin C dapat menghalangi pelekatan glukosa pada protein sehingga proses glikasi terhambat dan pembentukan radikal anion superoksida menurun (Padayatty *et al.*, 2003). Hal ini juga menjelaskan bahwa adanya vitamin C di dalam daun kapulaga dapat bekerja sebagai peredam radikal superoksida yang akhirnya dapat memperkuat kerja enzim SOD di dalam tubuh tikus diabetes. Dengan demikian terjadi sinergisme antara flavonoid

dengan vitamin C, yang mengakibatkan berkurangnya jumlah radikal bebas dan sebaliknya dapat meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan hasil analisis terhadap data yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas enzim superoksida dismutase tikus diabetes mengalami peningkatan setelah 14 hari pemberian ekstrak daun kapulaga.

### DAFTAR REFERENSI

- Al-Katib SM, Al-Khasab EM, Kalo MS, Hamdoon AA. 2009. The Antioxidant Effects of Flavonoids and Non-Flavonoid Part Extract from Ginger (*Zingiber officinale*) Roots. *Journal Raf Sci*. 20(3):18-31.
- Amic D, Beslo D, Trinastjic N. 2003. Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids. *Croatia Chemical Acta*. 76(1):56-61.
- Arifin H, Vivi D, Almahdy A. 2007. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Fetus pada Mencit Diabetes. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 12(1):32-40.
- Aylindania N. 2007. Pengaruh Pemberian Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap Aktivitas Radikal Bebas pada Hepar Mencit (*Mus musculus*) Diabetes [Skripsi]. Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, Malang.
- Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitivity Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principles of Protein Dye-Binding. *Anal. Biochem*. 11:870-884.
- Castenmiller JM, Soren T, Lauridsen, Dragsted LO, Karin H, Jozef PH, Clive E. 1999. B-Carotene does not change markers of enzymatic antioxidant activity in human blood. *J Nutr*. 129:2162-2169.
- Chis IC, Ungureanu MU, Marton A, Simearea R, Muresan A, Potescu I, Decea N. 2009. Departement of Physiology. University of Medicine and Pharmacy. Romania.
- Day R, Lal SS. 2012. Supplementation effects of vitamin C and vitamin E on oxidative stress in post menopausal diabetic women. *BioChemistry: An Indian Journal*. 2012;6(4).
- Devi SA, Umasankar ME, Babu S. 2012. A Comparative Study of Anti Oxidant Properties in Common Indian Spices. *IRJP*. 3(5):465-468.
- El-Beshbishy HA. 2005. Hepatoprotective Effect of Green Tea (*Camellia sinensis*) Extract against Tamoxifen-induced Liver Injury in Rats. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 38(5):563-570.
- Firuzi O, Lacanna A, Petrucci R, Marrosu G, Saso L. 2005. Evaluation of The Antioxidant Activity of Flavonoid by "Ferric Reducing Antioxidant Power" Assay and Cyclic Voltammetry. *Biochim Biophys Acta*. 1721:174-184.
- Janson S, Erawan W, M. Akbar K. 2011. Pemberian Vitamin C Dikontraindikasikan pada Pengobatan Tuberkulosis dengan Isoniazid. *Journal of the Indonesian Medical Students Association*. 1(1):10-15.
- Kim SJ, BJ, Choi WC, Kin CS. 2006. Hypoglycemic and Antihyperlipidemic Effect of Four Korean Medicinal Plants in Alloxan Induced Diabetic Rats. *American Journal Biochemical Biotechnology*. 2(4):154-160.
- Lu Y, Zhang Q, Li J, Sun Y, Wang L, Cheng W, Yang H. 2010. Antidiabetic Effects of Total Flavonoids from *Litsea Coreana* leave on Fat-Fed, Streptozotocin- Induced Type 2 Diabetic Rats. *The American Journal of Chinese Medicine*. 38(4):713-725.
- Morakinyo AO, Akindele AJ, Ahmed Z. 2011. Modulation of Antioxidant Enzymes and Inflammatory Cytokines: Possible Mechanism of Anti-diabetic Effect of Ginger Extracts. *Afr. J. Biomed. Res*. 14:195-202.
- Nathan MN, Buse JB, Mayer BD, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R, Zinman B. 2008. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for Initiation and Adjustment of Therapy. *Diabetes Care*. 31(1):173-175.
- Nijveldt RJ. 2001. Flavonoids: a Review of Probable Mechanism of Action and Potential Applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 74:418-425.
- Oxis Research. 2001. Spectrophotometric Assay for Superoksida Dismutase For Research Use Only Not For Use In Diagnostic Procedures. Oxis Health Product. USA.
- Padayatty SJ, Are K, Yahoi W, Peter E, Oran K, Je-Hyuk L, Shenglin C, Crishtoper C, Anand D, Mark L. 2003. Vitamin C as Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*. 22(1):18-35.
- Pattabiraman K, Muthukumar P. 2011. Antidiabetic and Antioxidant Activity of Morinda tinctoria roxb Fruits Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Asian Journal Pharmacy Technology*. 1(2):34-39.
- Sadi G, Yilmaz O, Guray T. 2007. Effect of Vitamin C and Lipoic acid on Streptozotocin- induced Diabetes Gene Expression: mRNA and Protein Expressions of Cu-Zn SOD and Catalase. *Mol Cell Biochem*. 309:109-116.
- Soegondo S. 2005. Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu. FKUI. Jakarta.
- Srividya AR, Dhanabal SP, Satish KMN, Parth KHB. 2010. Antioxidant and Diabetic Activity of *Alpinia Galanga*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 3(1): 6-12.
- Sugihara N, Ohnishi M, Imamura K, Fuono K. 2001. Differences in Antioxidative Efficiency of Cathecins in Various Metal-induced Lipid Peroxidation in Cultured Hepatocytes. *Journal of Health Science*. 47(2): 99-106.
- Widowati. 2008. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *JKM*. 7(2): 1-2.
- Winarsi H, Sasongko ND, Purwanto A, Nuraeni I. 2012. Minuman Berbasis Ekstrak Kapulaga sebagai Antioksidan yang Berpotensi Antidiabetes. Laporan Penelitian MP3EI (tidak dipublikasikan). LPPM, Universitas Jenderal Soedirman.
- Wiyono P. 2003. Peranan Hiperglikemia Terhadap Terjadinya Komplikasi Kronik Diabetes Melitus. *B.I. Ked*. 35(1):55-60.