

## AKTIVITAS SUPEROKSIDA DISMUTASE TIKUS DIABETES YANG DIBERI EKSTRAK BATANG KAPULAGA DAN GLIBENKLAMID

GISTI RAHMAWATI<sup>1</sup>, FARIDA NUR RACHMAWATI<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

Superoxide Dismutase (SOD) is an antioxidant enzyme which reduce anion superoxide radicals as well as known caused of diabetes. There are many natural additive was believed having capacity to repaired an antioxidant cellular status. Cardamom's stem were reported containing flavonoid and vitamin C which have been proven as in vitro antioxidant. There was no data showing its in vivo potency. This study aims to knoe the SOD activity of diabetes rats which were given cardamom stem extract (CSE) and glibenclamide. The research carried out with the use of experimentally Randomized Design Complete (RAL) by administering treatment on diabetes rat without CSE and glibenclamide as a control, consist of 100 mg/kg bodymass CSE and 2 mg/kg bodymass glibenclamide. The experiment consists of 3 treatments with 7 repetitions, blood sampling carried out experiments as much as 3 times with intervals of 7 days once. The data was analyzed using a variety of analysis (ANOVA). The result showed that the SOD activity increased from 4261 Unit/mg protein to 6604,668 Unit/mg protein ( $P < 0.01$ ) in diabetes rats treatment by CSE for 14 days.

KEY WORDS: SOD, Cardamom, Diabetes-Rat

Penulis korespondensi: GISTI RAHMAWATI | email: [gistirahmawati@gmail.com](mailto:gistirahmawati@gmail.com)

### PENDAHULUAN

Diabetes merupakan kelompok penyakit gangguan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (American Diabetes Assossiation, 2006). Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah penderita diabetes cukup tinggi didunia yang terbukti dengan menempati peringkat keempat, setelah China, India dan Amerika Serikat (Siburian *et al.*, 2010). Salah satu faktor yang memicu penyakit ini adalah banyaknya radikal bebas ataupun Reactive Oxigen Species (ROS) (Dominguez *et al.*, 1998; Winarsi dan Purwanto, 2010). ROS adalah senyawa oksigen yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu elektron atau yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Demi mencapai kestabilan atom atau molekulnya, ROS cenderung menarik elektron dari molekul-molekul penting disekitarnya seperti protein, lipid, dan DNA untuk memperoleh pasangan elektron (Yang *et al.*, 2002; Winarsi, 2005). Hal ini dapat membahayakan jaringan dan menyebabkan kematian sel (Winarsi, 2007). Tubuh memiliki penangkal untuk menanggulangi radikal bebas tersebut, yaitu enzim antioksidan (Wresdiyati *et al.*, 2008; Astuti *et al.*, 2009).

Antioksidan merupakan suatu substansi yang dapat menghambat oksidasi molekul-molekul penting seperti protein, lemak, dan DNA yang diakibatkan oleh radikal bebas, yaitu dengan cara mendonorkan elektronnya atau berperan sebagai reduktan (Lim *et al.*, 2006; Winarsi, 2007). Radikal bebas memicu stres oksidatif, yaitu suatu kondisi ketika produksi oksidan atau ROS melebihi kapasitas antioksidan dalam tubuh sehingga akan mengarahkan pada oksidasi molekul-molekul penting dalam tubuh (Bowen-Forbes *et al.*, 2008). Superoksid dismutase merupakan

antioksidan primer yang memegang peranan dalam menanggulangi radikal bebas, yaitu anion superoksid.

Hiperglikemia menyebabkan stres oksidatif lebih lanjut, karena mampu menghasilkan radikal bebas lebih banyak, dan menurunkan kerja antioksidan dalam tubuh (Wiyono, 2003). Anion superoksid merupakan radikal bebas yang dikatalisis SOD menjadi hidrogen peroksid dan molekul oksigen (Mates *et al.*, 1999). Menurut Ruwiastuti (2001) kadar SOD dalam jaringan hati tikus yang berada dibawah kondisi stres menunjukkan adanya penurunan. Penurunan kadar SOD dibawah kondisi stres sangat tidak diharapkan, mengingat fungsi SOD sebagai antioksidan penangkal radikal superoksid yang jumlahnya meningkat pada kondisi stres oksidatif. Oleh karena itu, diperlukan adanya upaya untuk meningkatkan kadar SOD dengan cara mengkonsumsi bahan makanan yang mengandung antioksidan. Selama ini diabetes diobati dengan glibenklamid, namun perlu disadari bahwa penggunaan obat dalam jangka panjang sering menimbulkan efek yang membahayakan tubuh.

Kapulaga merupakan komoditas rempah-rempah Familia Zingiberaceae yang cukup diperhitungkan di Indonesia. Bagian kapulaga yang sering dimanfaatkan adalah bijinya baik untuk obat maupun bumbu masakan. Batang kapulaga yang selama ini kurang dimanfaatkan ternyata memiliki kandungan antioksidan (Winarsi dan Arinton 2012). Ekstrak batang kapulaga yang diekstrak menggunakan ethanol 96% memiliki kandungan flavonoid sebesar 21,46 mg/gr ekstrak dan vitamin C sebesar 5,6 mg/gr ekstrak (Winarsi dan Arinton, 2012). Flavonoid dan vitamin C merupakan senyawa antioksidan (Noorozi *et al.*, 1998). Pemberian ekstrak batang kapulaga (EBK) diharapkan dapat meningkatkan aktivitas SOD pada tikus diabetes yang di induksi aloksan, sehingga

dapat menurunkan kadar radikal bebas yang mengarahkan pada penyembuhan.

Berdasarkan uraian di atas diperoleh permasalahan, apakah aktivitas SOD tikus diabetes dapat dipengaruhi oleh pemberian EBK dan glibenklamid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas SOD tikus diabetes yang diberi EBK dan glibenklamid. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah tentang aktivitas SOD tikus diabetes yang diberi EBK dan glibenklamid. Berdasarkan informasi ini diharapkan menambah daftar functional food yang baik untuk penderita diabetes.

## METODE

Obyek yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* strain sprague dawley) betina berumur 2-3 bulan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah disposable syringe, timbangan digital, timbangan analitik, timbangan, kandang tikus, gelas ukur, kertas whatman no. 41, pisau, botol gelap, erlenmeyer, tabung mikrosentrifuse, sentrifuse, gunting, sarung tangan, pipet kapiler haematokrit, alumunium foil, glucotest, glucostrip, sonde, vorteks, spektrofotometer, rotary evaporator, pipet ukur, dan filler.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aloksan monohidrat, NaCl fisiologis, aquades, batang kapulaga, glibenklamid, pakan, air, kapas steril, sekam, EDTA 10%, xantin, sitokrom C, etanol 96%, buffer fosfat tanpa EDTA, xantin oksidase, buffer fosfat dengan EDTA, aquabides, dan Superoksida Dismutase (SOD).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fisiologi Tumbuhan, Animal House serta Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Waktu pelaksanaan penelitian dilakukan selama 3 bulan yang berlangsung selama bulan Oktober 2012-Januari 2013.

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan rancangan dasar, yaitu rancangan acak lengkap (RAL). Percobaan terdiri dari 3 perlakuan dengan 7 kali pengulangan, pengambilan sampel dilakukan sebanyak 3 kali.

Perlakuan yang dicobakan meliputi tikus diabetes tanpa pemberian Ekstrak Batang Kapulaga (EBK) dan glibenklamid, tikus diabetes yang diberi EBK, dan tikus diabetes yang diberi Glibenklamid.

Pembuatan EBK dilakukan dengan cara menggiling hingga halus batang kapulaga yang telah dikeringkan dibawah sinar matahari kemudian direndam dengan etanol 96% selama 24 jam. Dilanjutkan penyaringan untuk mendapatkan filtrat batang kapulaga. Filtrat diuapkan menggunakan alat rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental.

Tikus putih yang baru didatangkan kemudian ditimbang bobot badannya dan dikelompokkan. Selama proses aklimasi tikus diberi pakan sebanyak 10% dari bobotnya, dan air secara ad libitum. Tikus yang akan diinduksi aloksan terlebih dahulu dipuaskan selama 24 jam. Aloksan monohidrat dilarutkan dalam NaCl fisiologis dengan dosis tunggal 120 mg/kg bobot tikus yang diinjeksikan secara intraperitoneal (Kim *et al.*, 2006). Setelah 4-7 hari, kadar glukosa darah diukur menggunakan glucotest. Darah tikus diambil dari vena lateralis ekor. Tikus dengan kadar glukosa darah puasa  $\geq$  126 mg/dl, dapat dinyatakan diabetes (Mansjoer *et al.*, 2007). Tikus yang telah mengalami hiperglikemia kemudian dikelompokkan sesuai perlakuan. Komposisi Pemberian EBK dan glibenklamid dilakukan

selama 14 hari dengan dosis EBK sebesar 100 mg/kg bobot badan, sedangkan glibenklamid sebesar 2 mg/kg bobot badan yang diberikan secara oral.

Pengambilan sampel darah tikus dilakukan dengan menggunakan pipet kapiler hematokrit yang diambil melalui vena pada pembuluh darah di mata. Sampel darah dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifuse yang didalamnya telah terdapat antikoagulan berupa EDTA 10%. Sampel darah yang telah terkumpul kemudian disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah terpisah antara plasma dan korpuskula, kemudian keduanya dipisahkan pada tabung mikrosentrifuse yang berbeda. Pengambilan sampel darah tikus dilakukan pada saat tikus dinyatakan diabetes (sebagai kontrol), 7 hari setelah perlakuan dan 14 hari setelah perlakuan.

Plasma sebanyak 20  $\mu$ l plasma ditambahkan reagen BPA (*Bradford Protein Assay*) sebanyak 200  $\mu$ l dan H2O 780  $\mu$ l. Blanko yang digunakan adalah 800  $\mu$ l H2O. Pembacaan absorbansi dilakukan menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm.

Pengukuran aktivitas SOD didasarkan pada penghambatan reduksi ferrisitokrom c oleh anion superoksida yang berasal dari oksidasi xantin/xantin oksidase yang tergantung pada anion superoksida. Reduksi ferisitokrom c menjadi sitokrom C, diamati berdasarkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 550 nm. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F yang kemudian dilanjutkan dengan uji BNT dengan tingkat kesalahan 5% dan 1%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

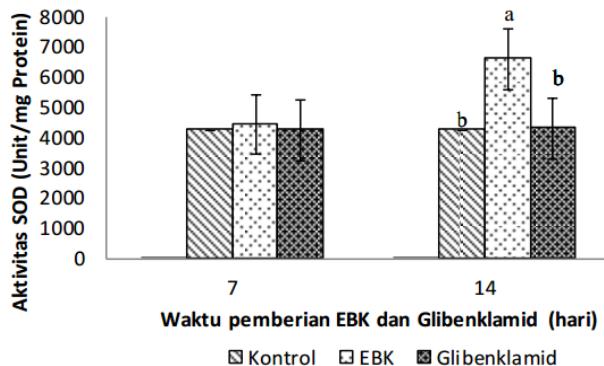
Berdasarkan pengukuran aktivitas SOD didapatkan bahwa kelompok tikus diabetes yang diberi Ekstrak Batang Kapulaga (EBK) selama 2 minggu menunjukkan nilai tertinggi yaitu sebesar 6604,668 unit/mg protein sedangkan nilai terendah pada kontrol (tikus diabetes sebelum diberi EBK ataupun glibenklamid) yaitu sebesar 4261,279 Unit/mg protein.

Analisis data menggunakan uji F aktivitas SOD tikus kontrol dengan kelompok yang diberikan perlakuan (EBK dan glibenklamid) selama 7 hari menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata ( $P > 0.05$ ). Namun demikian ketika dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberikan perlakuan selama 14 hari, ternyata aktivitas SOD meningkat nyata ( $P < 0.05$ ). Kemudian dilakukan uji lanjut BNT untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Lanjut BNT antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi glibenklamid menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ).

Uji BNT aktivitas SOD antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi EBK menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0.01$ ). Uji lanjut BNT antara kelompok tikus yang diberi EBK dengan kelompok tikus yang diberi glibenklamid menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0.05$ ). Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) tikus diabetes selama percobaan disajikan pada Gambar 1.

Menurut Winarsi dan Arinton. (2012), aktivitas SOD tikus normal (non-diabetes) yaitu sebesar 5043,92 unit/mg protein. Aktivitas tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dengan aktivitas tikus

diabetes saat awal (kontrol). Tingginya aktivitas SOD tikus normal dikarenakan kadar glukosa darahnya yang normal sehingga tidak memicu produksi radikal bebas yang berlebih. Sebaliknya, rendahnya aktivitas SOD kelompok tikus diabetes (kontrol) berhubungan dengan kondisi stres oksidatif akibat induksi aloksan.



**Gambar 1.** Aktivitas SOD tikus diabetes selama diberi EBK dan glibenklamid.

Menurut Ruhe & McDonald (2001) penderita diabetes mengalami stres oksidatif berkelanjutan dikarenakan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia). Tingginya kadar glukosa darah meningkatkan pembentukan ROS, melalui reaksi oksidasi reduksi sehingga mendorong lebih banyak donor elektron NADH dan FADH<sub>2</sub> masuk ke dalam rantai transport elektron (Wiyono, 2003; Suarsana *et al.*, 2011). Peningkatan laju transport elektron turut berkontribusi dalam pembentukan anion superokksida.

Stres oksidatif yang terjadi menyebabkan peningkatan laju peroksidasi lipid yang berkontribusi dalam produksi radikal bebas, termasuk terbentuknya anion superokksida, sehingga menyebabkan modifikasi oksidatif yang mengakibatkan terinaktivitasnya SOD (Gupta & Chari, 2005). Peroksidasi lipid adalah peristiwa teroksidasinya lipid yang berlangsung secara cepat (Pasaoglu *et al.*, 2004). Lipid yang teroksidasi merupakan bagian fosfolipid membran sel  $\beta$  pankreas pada penderita diabetes sehingga mempengaruhi kestabilan strukturnya. Demikian pula fungsi vital sel sebagai penyedia hormon insulin turut terganggu, karena peroksidasi lipid menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel (Yuriska, 2009). Produksi hormon insulin menjadi berkurang, demikian pula fungsinya, sehingga tidak mampu mengarahkan pemasukan glukosa ke jaringan. Kondisi tersebut menyebabkan kadar glukosa dalam darah menjadi tinggi, yang berkontribusi dalam penurunan aktivitas SOD (Robertson *et al.*, 2004), dengan cara membangkitkan metabolisme glukosa alternatif dan menghasilkan radikal bebas lebih banyak.

Aktivitas SOD pada hari ke-14 yang menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara kelompok kontrol dengan glibenklamid membuktikan bahwa glibenklamid tidak memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan aktivitas SOD. Glibenklamid merupakan obat diabetes generasi kedua sulfonylurea yang dapat menurunkan kadar glukosa darah

sehingga kondisi hiperglikemia dapat dikendalikan. Mekanisme penurunan kadar glukosa darah dilakukan dengan cara merangsang sekresi hormon insulin, meningkatkan pengambilan glukosa dari darah ke jaringan, oksidasi glukosa, dan aktivasi sintesis glikogen di hati dan jaringan adiposa. Harapannya, pemberian glibenklamid dapat meningkatkan aktivitas SOD tikus diabetes, mengingat kemampuannya dalam menurunkan kadar glukosa. Namun ternyata, aktivitas SOD tikus diabetes yang diberi glibenklamid tidak meningkat. Kemungkinannya kerja glibenklamid lebih terfokus pada stimulasi hormon insulin untuk menurunkan kadar glukosa darah pada tahap awal, sehingga belum dapat menghentikan jalur-jalur alternatif seperti tersebut diatas (autooksidasi, glikasi, ataupun poliol). Oleh sebab itu, perlu diamati jalur metabolisme setelah 14 hari observasi.

Peningkatan aktivitas SOD secara signifikan pada kelompok perlakuan EBK selama 14 hari membuktikan bahwa pemberian EBK mampu meningkatkan aktivitas SOD tikus diabetes. Peningkatan aktivitas tersebut berkaitan dengan kandungan flavonoid sebesar 21,46 mg/gr dan vitamin C sebesar 5,6 mg/gr di dalam EBK (Winarsi dan Arinton, 2012). Temuan ini mendukung Quine (2005) yang mengemukakan bahwa aktivitas enzim SOD tikus yang diberi epicatechin (salah satu jenis flavonoid dalam teh) juga meningkat.

Beberapa peneliti melaporkan bahwa flavonoid bekerja sebagai antioksidan. Dembinska-Kiec *et al.* (2008) menyatakan bahwa flavonoid bekerja sebagai antioksidan dengan cara meningkatkan aktivitas SOD. Dilaporkan pula bahwa flavonoid bekerja sebagai radical scavenger, untuk radikal oxygen singlet dan lipid peroksidasi (Ahmed, 2005; Astuti *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011). Flavonoid menekan kerja peroksidase, sehingga menghambat pembentukan ROS oleh neutrofil (Nijveldt *et al.*, 2001). Flavonoid juga menghambat pembentukan ROS dengan menekan kerja beberapa enzim yang memproduksinya (Lukacinova *et al.*, 2008). Sebagai antioksidan potensial, flavonoid mengelat logam dan menstabilkannya sehingga logam tersebut tidak dapat mengkatalisis reaksi oksidasi radikal bebas (Song *et al.*, 2005). Flavonoid meredam reaktivitas radikal bebas, sehingga mengarahkan molekul tersebut menjadi lebih stabil. Flavonoid juga bekerja mendonorkan ion hidrogen atau elektron kepada anion superokksida sehingga melindungi lipoprotein, protein, dan DNA dari oksidasi (Nijveldt *et al.*, 2001; Dembinska-Kiec *et al.*, 2008; Norshazila *et al.*, 2010; Winarsi, 2007).

Peningkatan aktivitas SOD tikus diabetes lebih tinggi terjadi pada kelompok yang diberi EBK daripada kelompok glibenklamid. Hal ini menggambarkan bahwa flavonoid lebih berpotensi dalam meningkatkan aktivitas SOD dibandingkan glibenklamid. Dengan demikian tampak adanya perbedaan aksi antara EBK dan glibenklamid. EBK

langsung meningkatkan aktivitas SOD melalui mekanisme kerja antioksidannya, sedangkan glibenklamid langsung mengendalikan kadar glukosa darahnya. Kedepannya, akan lebih tepat bila EBK dikombinasikan dengan glibenklamid untuk penderita diabetes.

Peningkatan aktivitas SOD tikus diabetes yang diberi EBK berkaitan dengan penurunan laju peroksidasi lipid. Demikian pula yang terjadi dengan penurunan jumlah radikal anion superokksida juga karena aktivitas SOD yang mengalami peningkatan. Penurunan laju peroksidasi lipid akibat kerja flavonoid mencegah kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Menurut Dene *et al.* (2005) flavonoid dapat menurunkan kadar gula darah. Kenyataannya, fungsi sel  $\beta$  tikus diabetes dapat diperbaiki dengan pemberian EBK, yang ditunjukkan dengan menurunnya kadar gula darah (Winarski dan Arinton, 2012). Dengan demikian, kerja flavonoid yang terkandung dalam EBK dapat meningkatkan aktivitas SOD dengan cara berperan sebagai scavenger anion superokksida, pengelat logam, dan menghambat kerja enzim penghasil radikal superokksida.

Selain flavonoid, Winarski dan Arinton (2012) melaporkan adanya vitamin C sebesar 5,6 mg/g eksrak dalam EBK. Vitamin C merupakan antioksidan penting yang memiliki kemampuan sebagai kemampuan vitamin C sebagai scavenger radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya. Lebih dari itu vitamin C juga dapat melindungi lipid membrane sel dari peroksidasi sehingga mengurangi pembentukan radikal bebas (Darko *et al.*, 2002). Oleh karena itu, vitamin C turut berkontribusi dalam mencegah kerusakan jaringan yang diakibatkan oleh efek negatif radikal bebas (Arifin *et al.*, 2007). Proses glikasi protein plasma penderita diabetes dapat dihambat secara signifikan oleh vitamin C melalui binding. Penghambatan proses glikasi protein oleh vitamin C turut mengurangi jumlah radikal anion superokksida dan sebaliknya meningkatkan aktivitas SOD. Dengan demikian, vitamin C dalam EBK meningkatkan aktivitas SOD melalui mekanisme kerja sebagai scavenger radikal anion superokksida, meregenerasi vitamin E teroksidasi, serta menghambat glikasi protein. Jelas bahwa aktivitas SOD tikus diabetes tidak hanya diperankan oleh flavonoid dalam EBK saja, melainkan juga didukung oleh vitamin C didalamnya.

## KESIMPULAN

Aktivitas SOD tikus sprague dawley diabetes dapat ditingkatkan oleh pemberian. Ekstrak Batang Kapulaga (EBK) selama 14 hari, sedangkan pemberian glibenklamid dalam waktu yang sama belum menunjukkan peningkatan yang nyata.

## DAFTAR REFERENSI

- Ahmed RG. 2005. The physiological and biochemical effects of diabetes on the balance between oxidative stress and antioxidant defense system. Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences. 15(1):31-42.
- American Diabetes Association. 2006. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 29(1):543-548.
- Arifin H, Delvita V, Almahdy A. 2007. Pengaruh pemberian vitamin c terhadap fetus pada mencit diabetes. *Journal Sains dan Teknologi Farmasi*. 12(1):32-40.
- Astuti S, Muchtadi D, Astawan M, Purwantara B, Wresdiyati T. 2009. Pengaruh pemberian tepung kedelai kaya isoflavon terhadap kadar Malonaldehid (MDA), aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) testis dan profil Cu, Zn-SOD tubuli seminiferi testis tikus jantan. *J. Teknol. dan Industri Pangan*. 20(2):129-134.
- Bowen-Forbes CS, Zhang Y, Nair MG. 2010. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *Journal of food composition and analysis*. 23(6):554-60.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*. 72:248-254.
- Darko D, Dornhorst A, Kelly FJ, Ritter JM, Chowlenczyk PJ. 2002. Lack of effect of oral vitamin c on blood pressure, oxidative stress, and endothelial function in type II diabetes. *Clinical science*. 103:339-344.
- Dembinska-kiec A, Mykkanen D, Kiec-Wilk B, Mykkanen H. 2008. Antioxidant phytochemicals agants type-2 diabetes. *British Journal of Nutrition*. 99(1):109-117.
- Dene BA, Maritim HC, Sanders A, Watkins JB. 2005. Effect of Antioxidant treatment on normal and diabetic rat retinal enzyme activities. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2(1):28-35.
- Dominguez C, Ruiz E, Gussinye M, Carrascosa A. 1998. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care*. 21(10):1736-1742.
- Gupta MM, Chari S. 2005. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with diabetic retinopathy. *Indian journal of physiology and pharmacology*. 49(2):187.
- Kim JS, Ju JB, Choi CW, Kim SC. 2006. Hypoglycemic and Antihyperlipidemic Effect of Four Korean Medicinal Plants in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Am J Biochem & Biotech*: 2(4) : 154-160
- Lim YY, Lim TT, Tee JJ. 2006. Antioxidant properties of guava fruit: comparison with some local fruits. *Sunway Academic Journal*. 3:9-20.
- Lukačinová A, Mojžiš J, Beňačka R, Keller J, Maguth T, Kurila P, Vaško L, Rácz O, Ništiar F. 2008. Preventive effects of flavonoids on alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Acta Veterinaria Brno*. 77(2):175-82.
- Mansoer A, Triyani K, Savitri R, Wardhani WI, Setyowulan W. 2007. *Kapita Selekta Kedokteran Edisi 3 Jilid 1. Media Aesculapius Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta* Mantiara, D. 2011. Pengertian oksigen. URL: [http://www.do\\_na\\_ma\\_ntiara.b\\_lo\\_gspo.t.co.m](http://www.do_na_ma_ntiara.b_lo_gspo.t.co.m). Diakses pada: 2 Desember 2012.
- Mates JM, Gomez CP, Castro LN. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin.Biochem*. 32(8):595-603.
- Nijveldt R, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen AM. 2001. Flavonoids: a Review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74:418-425.
- Noorozzi M, Angerson WJ, Lean MEJ. 1998. Effect of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocyte. *Am. J. Clin. Nutr.* 67:1210-1218.
- Norshazila S, Zahir S, Suleiman M, Aisyah MR, Rahim K. 2010. Antioxidant levels activities of selected seed of Malaysian tropical fruits. *Mal J Nutr.* 16(1):149-159.
- Pasaoglu H, Sancak B, Bukan N. 2004. Lipid peroxidation and resistance to oxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 203(3):211-8.
- Quine SD, Raghu PS. 2005. Effects of (-)-epicatechin, a flavonoid on lipid peroxidation and antioxidants in streptozotocin-induced diabetic liver, kidney and heart. *Pharmacol Rep.* 57(5):610-5.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V. 2004. B-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*. 53(1):S119-24.
- Ruhe RC, McDonald RB. 2001. Use of antioxidant nutrients in the prevention and treatment of type 2 diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*. 20(5):363S-369S.
- Ruwiastuti VD. 2001. Deteksi Secara Imunohistokimia Antioksidan Copper,Zinc-Superoxide Dismutase (Cu,Zn-SOD) Pada Hati

- Tikus Di Bawah Kondisi Stres [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Siburian J, Anggreini E, Hayati SF. 2010. Analisis pola sidik jari tangan dan jumlah sulur besar sudut ATD penderita diabetes melitus di Rumah Sakit Umum Daerah Jambi. Biospecies. 2(2):12–17.
- Song Y, Manson JE, Buring JE, Sesso HD, Liv S. 2005. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women : a prospective study and cross-sectional analysis. *Journal of American Collage of Nutrition*. 24(5):376–384.
- Suarsana IN, Utama IH, Agung IG, Suartini A. 2011. Pengaruh hiperglikemia dan vitamin E pada kadar malonaldehida dan enzim antioksidan intrasel jaringan pankreas tikus. MKB. 43(2):72–26.
- Winarsi H, Arinton IG. 2012. Pengembangan ekstrak batang kapulga sebagai minuman kaya antioksidan yang berpotensi sebagai antidiabetes. Laporan Penelitian. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Winarsi H, Purwanto A. 2010. Efek suplementasi ekstrak protein kecambah kedelai terhadap kadar IL-1 beta penderita diabetes tipe 2. *J. Teknol & Industri Pangan*. 21(11):6–10.
- Winarsi H. 2005. Isoflavon Berbagai Sumber, Sifat dan Manfaatnya pada Penyakit Degeneratif. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Winarsi H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius.
- Wiyono P. 2003. Peranan hiperglikemia terhadap terjadinya komplikasi kronik diabetes melitus. Berkala Ilmu Kedokteran. 35(1):55–60.
- Wresdiyati T, Astawan M, Fithriani D, Adyane IKM, Hidayati M. 2008. Pemanfaatan  $\alpha$  tokoferol untuk meningkatkan profil Superoksid Dismutase (SOD) ginjal tikus dibawah kondisi stres. *Biota*. 13(3):147–155.
- Yang J, Lin H, Mau J. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem*. 7:229–235.
- Yuriska A. 2009. Efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus winstar [Skripsi]. Universitas Diponegoro–Semarang.
- Zhang M, Cao J, Chen X, Wang Q. 2011. Flavonoid contents and free radical scavenging activity of extract from leaves, stem, rachis, and roots of *Dryopteris erythrosora*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 11(3):991–997