

EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*) MENINGKATKAN KETAHANAN MEMBRAN ERITROSIT TIKUS YANG DIPERLAKUKAN DIABETES MELLITUS

*Ethanol Extract of Muntingia calabura L. leaves Increases Erythrocyte
Membrane Resistance in Diabetic Rats*

**Fonnie Esther Hasan¹, Sri Yunanci Van Gobel², Magdalena Magdalena³, Adryan
Fristiohady⁴, Reni Yunus^{1*}**

¹Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Kendari

² Jurusan Gizi, Poltekkes Kemenkes Kendari

³Jurusan Gizi, Poltekkes Kemenkes Banjarmasin

⁴Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo

*Email: reniyunus82@gmail.com

ABSTRACT

The condition of Diabetes Mellitus (DM) due to hyperglycaemia can induce free radicals and decreased oxidant defence system, chronic hyperglycaemia will result in increased production of free radicals resulting in oxidative stress. The aim of this study was determine the oxidant activity of Kersen Leaf Extract in increasing the resistance of erythrocyte membranes in rats treated with diabetes mellitus by measuring the activity of Malondialdehyde (MDA) and measuring the percentage of erythrocyte cells that are hemolyzed. This study was conducted *in vivo by examining the antioxidant activity of Muntingia calabura L. by measuring the levels of MDA and membrane resistance* in diabetic rats. This study used animal model *Rattus Norvegicus Wistar* strain, total of 30 rats was divided into six groups with 5 rats in each group, which are negative control group, positive control group, positive control was added standard drug group, and diabetic rats. Kersen (*Muntingia calabura L.*) leaves extract reduced *Malondialdehyde* (MDA) levels of erythrocytes in diabetic rats at an optimum dose of 400 mg/kg of weight per day with a mean MDA value of $4.91 \pm 2.1 \mu\text{mol/ml}$. In addition, can reduce the amount of hemolysis of erythrocytes in diabetic rats at an optimum dose of 400 mg/kg of weight per day, and can reduce the number of abnormal erythrocytes in rats treated with diabetes mellitus with an optimum dose of 400 mg/kg bw/day with a mean haemolysis value of $33.34 \pm 4.04\%$. Kersen (*Muntingia calabura L.*) leaf extract increases the resistance of erythrocyte of diabetic rat's.

Keywords: *Erythrocytes, Kersen (Muntingia calabura L.) leaf extract, Malondialdehyde (MDA)*

ABSTRAK

Kedadaan Diabetes Mellitus karena hiperglikemia dapat menginduksi radikal bebas dan penurunan sistem pertahanan oksidan, hiperglikemia kronis akan mengakibatkan meningkatnya produksi radikal bebas sehingga terjadilah stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas oksidan pada Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) dalam meningkatkan ketahanan membrane eritrosit tikus yang diperlakukan Diabetes mellitus melalui pengukuran aktivitas *Malondialdehyde* (MDA) dan pengukuran persentase sel eritrosit yang mengalami hemolisis. Desain penelitian dilaksanakan secara *in vivo* dengan menggunakan hewan coba *Rattus Norvegicus strain Wistar*, berjumlah 30, yang dibagi kedalam 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus diabetes, dimana terdapat kontrol negative, kontrol positif, kontrol positive dengan penambahan obat, dan kelompok tikus diperlakukan diabetes. Ekstrak etanol Kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat menurunkan level *Malondialdehyde* (MDA) levels pada

eritrosit tikus diabetes pada dosis optimum 400 mg/kg dari berat badan perhari dengan rata-rata kadar MDA $4.91 \pm 2.1 \mu\text{mol/ml}$, dapat mengurangi hemolisis eritrosit tikus diabetes pada dosis optimum 400 mg/kg dari berat badan per hari, dan dapat mengurangi jumlah eritrosit abnormal pada tikus diates, dengan dosis optimum 400 mg/kg berat badan/hari dengan rata-rata nilai hemolisis $33.34 \pm 4.04\%$. Ekstrak Kersen (*Muntingia calabura* L) dapat meningkatkan ketahanan eritrosit dari tikus diabetes mellitus.

Kata Kunci: Ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura* L.), Eritrosit , Malondialdehyde (MDA)

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah kelainan metabolisme heterogen yang ditandai dengan adanya hiperglikemia (kadar gula darah yang tinggi) akibat gangguan sekresi insulin, aksi insulin yang rusak atau keduanya [1]. Hiperglikemia merupakan penyebab utama stres oksidatif, yang bekerja melalui beberapa mekanisme [2].

Hiperglikemia kronis pada pasien dengan diabetes mellitus menunjukkan gangguan signifikan dalam berbagai parameter hematologis. Faktanya, beberapa perubahan hematologis yang mempengaruhi eritrosit atau sel darah merah (RBC), sel darah putih (WBC), platelet dan faktor koagulasi terbukti berhubungan langsung dengan Diabetes mellitus [3].

Perubahan metabolisme eritrosit akibat hiperglikemia ditandai dengan meningkatnya proses glikosilasi Hb, sehingga terjadinya peningkatan HbA^{1c} (hemoglobin A^{1c}) atau *glycated hemoglobin* [4]. Peningkatan HbA^{1c} pada proses glikosilasi non enzimatis menyebabkan terbentuknya produk *Advanced Glycation End Products* (AGEs), peningkatan aktivitas *aldose reduktase* dan *Polyol pathway*, keseluruhan dari proses tersebut menyebabkan stres oksidatif (ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan) dan glikosilasi oksidatif terjadi secara signifikan bila gula darah meningkat [5].

Stres oksidatif juga didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi peningkatan level *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS adalah molekul yang sangat [1]reaktif dan dapat merusak struktur sel seperti karbohidrat, asam nukleat, lipid, dan protein serta mengubah fungsinya. Pergeseran dalam keseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang mendukung terjadinya "stres oksidatif." [6]. Sel darah merah yang terpapar dengan ROS secara kronis, dapat merusak membran eritrosit dan menurunkan deformabilitasnya [7]. Kerusakan membran eritrosit dipengaruhi oleh keberadaan rantai PUFA yang mudah teroksidasi oleh molekul O₂ melalui reaksi berantai radikal bebas yang disebut peroksidasi lipid. [8]. Proses peroksidasi lipid dalam suatu organisme menyebabkan kelebihan produksi *Malondialdehyde* (MDA). [9].

Banyak penelitian menetapkan bahwa *Reactive Oxygen Species* (ROS) terlibat dalam etiologi Diabetes mellitus [10]. Jebur, Mokhamer dan El-Demerdash (2016) telah membuktikan bahwa pada biomarker kerusakan DNA dan produk peroksidasi lipid menunjukkan hubungan antara diabetes dengan stres oksidatif [11].

Selain itu, kelainan metabolik diabetes menyebabkan kelebihan produksi mitokondria superoksida dalam sel endotel baik pembuluh besar maupun kecil, dan juga pada area mikrovaskuler dan kardiovaskular [12]. Kondisi hiperglikemia kronis berhubungan dengan komplikasi mikrovaskular yang mempengaruhi mata, ginjal dan saraf, serta peningkatan risiko komplikasi makrovaskular seperti penyakit kardiovaskular (CVD) [1].

Komplikasi mikrovaskular termasuk *retinopati*, *nefropati* dan *neuropati*, yang merupakan penyebab utama kebutaan, penyakit ginjal dan berbagai penyakit neuropati, sedangkan komplikasi makrovaskular melibatkan penyakit terkait aterosklerosis,

diantaranya penyakit arteri koroner, penyakit pembuluh darah perifer dan penyakit stroke [1].

Bila sistem pertahanan oksidan tidak dapat menghambat propagasi radikal bebas, maka akan terjadi efek oksidan yang lebih luas dan menyebar ke jaringan sampai organ, serta menimbulkan kerusakan oksidatif (*oxidative damage*). Kerusakan akibat proses oksidatif pada eritrosit dapat dicegah dengan sistem pertahanan antioksidan yang efisien [13]. Fungsi antioksidan dalam sel manusia adalah untuk mengimbangi dan memproteksi perkembangan Spesies Oksigen Reaktif (ROS) yang bersifat toksik. Antioksidan umumnya meliputi vitamin A, C, dan E, Glutathione (GSH), dan enzim *Superoksida Dismutase (SOD)*, *Katalase (CAT)*, *Glutathione peroxidase (GPx)*, dan *Glutathione reductase (GRx)* [14].

Diantara berbagai tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai tumbuhan sumber antioksidan alami adalah tumbuhan Kersen (*Muntingia calabura*). Kersen memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi utamanya pada daun dan batang. Potensi antioksidan tersebut sering digunakan dalam pengobatan tradisional [15]. Penelitian sebelumnya mengenai aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total dan *flavonoid* dari ekstrak kasar tumbuhan Kersen membuktikan bahwa ekstrak metanol akar dan daun memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Kandungan total *flavonoid* tertinggi ditemukan dalam ekstrak methanol daun [16]. Selain itu, tumbuhan Kersen juga memiliki kandungan fitokimia yang kuat lainnya yaitu glikosida, tanin, senyawa fenolik, serta zat gizi seperti karbohidrat, protein dan asam amino [17].

Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap komponen bioaktif tumbuhan Kersen dalam beberapa pelarut (air, metanol, etanol, kloroform, eter, dan asam sitrat), ditemukan komponen bioaktif antioksidan yaitu, Saponin, flavonoid dan tanin pada semua pelarut [18]. Selain senyawa bioaktif tersebut, dari ekstrak etanol daun dan batang *Muntingia calabura L.* terdapat aktifitas antimikroba [19].

Tanaman kersen memiliki potensi obat berdasarkan kandungan bahan aktif yang terkandung pada masing-masing bagian mulai dari akar, daun dan buah [20]. Penelitian lain juga membuktikan bahwa tumbuhan Kersen berpotensi sebagai bahan obat pada penyakit Diabetes mellitus [21], *gout atritis* [22] dan rematik [23]. Selain potensi sebagai sumber antioksidan alami dan bahan obat yang dimiliki, tanaman Kersen juga kaya dengan serat, serat pada tumbuhan Kersen mengandung selulosa yang tinggi [24].

Dalam proses pencernaan adhesi serat dapat menghambat penyerapan glukosa dan lemak yang berasal dari makanan dan membuangnya keluar tubuh. Pada penderita Diabetes Tipe 2 konsumsi bahan makanan yang mengandung serat larut dalam air memiliki efek terapi dan mengurangi risiko pengembangan diabetes [25]. Studi yang dilakukan terhadap hewan coba tikus putih jenis *Rattus novergicus* yang diperlakukan Diabetes Mellitus tipe II yang diberi Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) per oral membuktikan bahwa pada daun kersen terdapat aktivitas anti diabetik [26]. Selanjutnya penelitian terhadap efek farmakologis buah Kersen yang diberikan pada tikus putih jenis *Rattus novergicus* yang diinduksi *Streptozotocin* (STZ) terbukti dapat menurunkan kadar gula darah [21].

Penelitian-penelitian yang ada menunjukkan bahwa stres oksidatif berperan dalam diabetes mellitus dan antioksidan berperan dalam memperbaiki gangguan yang disebabkan oleh radikal bebas. Peningkatan kadar radikal bebas oksigen dan nitrogen terkait erat dengan peroksidasi lipid, glikasi protein non-enzimatik dan oksidasi glukosa yang berkontribusi terhadap diabetes mellitus. Tumbuhan kersen mengandung berbagai macam zat yang memiliki aktivitas antioksidan, vitamin antioksidan dan fitonutrien dapat digunakan sebagai terapi alami yang potensial untuk mengurangi stres oksidatif dan mengurangi komplikasi diabetes.

Berdasarkan hal itu, maka peneliti tertarik untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) dalam menghambat proses *Peroksidasi lipid* dengan mengukur kadar *Malondialdehida* (MDA) dan ketahanan membran eritrosit tikus yang diperlakukan Diabetes mellitus. Mengukur kadar *malondialdehyde* pada proses peroksidasi lipid adalah salah satu tes yang paling banyak diterima untuk kerusakan oksidatif. *Malondialdehida* (MDA) sebagai produk sekunder aldehyd peroksidasi lipid ini umumnya diterima sebagai biomarker untuk mengukur tingkat stres oksidatif dalam suatu organisme dan status antioksidan [9].

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, dengan menggunakan rancangan acak sederhana *post test only control group design*. Penelitian pada bulan Maret sampai dengan bulan Agustus 2019 di Laboratorium Farmasi, dan Laboratorium Kedokteran Universitas Haluoleo Kendari.

A. Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji coba tikus jenis *Rattus Novergicus* Strain Wistar, jantan, umur 8 – 12 minggu BB awal 100 - 200 gram, disediakan oleh Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran, Universitas Haluoleo, Kendari, Indonesia. Kondisi tikus dalam keadaan sehat yang ditandai dengan gerakan aktif. Sebelum diperlakukan tikus diadaptasikan selama seminggu. Hewan ditempatkan di kandang *polypropylene* di ruang pemeliharaan yang dikontrol pada suhu $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dan kelembaban relatif 60-70% dengan kondisi lingkungan standar (12 jam terang dan 12 jam siklus gelap). Hewan-hewan tersebut dipelihara dengan diet pelet standar dan air minum secara *ad libitum*. Semua protokol eksperimental yang digunakan dalam penelitian ini akan dilaksanakan setelah mendapat persetujuan layak etik dari Lembaga Komisi Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar dengan nomor rekomendasi : 375/KEPK-PTKMKS/V/2019 tanggal 21 Mei 2019.

30 (tiga puluh) ekor tikus dibagi menjadi 6 Kelompok @ kelompok 5 ekor Tikus yaitu: Kelompok tikus normal dengan diet standar, berupa pakan dari pelet dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Kelompok tikus Diabetes Mellitus dengan diet standar, Kelompok kontrol positif dan obat (*glibenclamide* 0,65 mg / Kg bb), kelompok terapi I : tikus Diabetes Mellitus dengan diet standar dan pemberian ekstrak daun kersen , dosis 100 mg/kg bb/hr , kelompok terapi II : 5 ekor tikus diperlakukan Mellitus dengan diet standart dan pemberian ekstrak daun kersen dosis 200 mg/kg bb/hr, Kelompok terapi III : 5 ekor tikus diperlakukan Mellitus dengan diet standart dan pemberian ekstrak daun kersen dosis 400 mg/kg bb/hr.

B. Pembuatan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*)

Daun Tumbuhan segar *Muntingia calabura* dibersihkan secara menyeluruh dengan air mengalir selanjutnya di bilas menggunakan air suling steril. Daun dikeringkan dalam kondisi teduh pada suhu kamar, kemudian daun dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Daun ditumbuk menjadi bubuk menggunakan mesin penggiling. Sampel serbuk disimpan pada suhu 4°C dalam botol tertutup.

Sampel ditimbang menggunakan timbangan digital dengan tingkat ketelitian 0.1 gram sebanyak 200 gr, dimasukkan ke dalam maserator, tuangi dengan etanol sampai permukaan sampel terendam seluruhnya, dibiarkan selama 3 hari pada tempat yang terlindung cahaya, sambil sekali-kali diaduk. Setelah 3 hari ekstrak tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring, ulangi lagi proses maserasi sebanyak 3 kali pengulangan sehingga didapat ekstrak cair daun kersen. Kemudian ekstrak cair tersebut didestilasi vakum untuk menguapkan pelarut, selanjutnya dengan bantuan alat *rotary evaporator* pada suhu tertentu diperoleh ekstrak kental.

C. Pembuatan Tikus Diabetes Mellitus

Membuat tikus menjadi tikus Diabetes Mellitus perlu merusak sel β pankreas dengan *Streptozotocin* (STZ). Setelah 5, 10 dan 15 hari penyuntikan STZ dengan dosis tunggal 60 mg / kg bb *intraperitoneal* (i.p) diukur kadar glukosanya dengan Glukosa Test (Easy Touch/Glucose By Bioptik Technology Inc. Taiwan). Tikus dikatakan Diabetes Mellitus apabila terjadi peningkatan kadar gula darah ≥ 200 mg/dL.

D. Pemberian Ekstrak Daun Kersen

Ekstrak daun Kersen diberikan dengan rute per oral atau *pipa feeding* sekali sehari diberikan 2 jam *post prandial* sebanyak 2 ml selama 14 hari, menggunakan sonde oral ujung tumpul ukuran 15 g/16 g 2 inci. Sonde oral yang berisi Ekstrak Daun Kersen ditempelkan pada langit-langit mulut tikus, kemudian perlahan-lahan dimasukkan sampai ke esophagus selanjutnya cairan ekstrak disuntikan. Cairan ekstrak selanjutnya masuk saluran intestinal (lambung), penyerapan ekstrak melalui membran mukosa pada lambung dan usus dan memberi efek sistemik.

E. Pengukuran MDA (Malonil Aldehida) melalui Uji Thiobarbituric Acid (TBA).

Reagen yang diperlukan adalah TCA. Adapun prinsip pemeriksaannya adalah Hidrogen peroksida lipid yang terjadi pada pembentukan peroksida lipid dipecah menjadi *Malonil Aldehida* yang apabila dipanaskan dengan reagen asam barbiturat membentuk warna pink. Selanjutnya, dilakukan pembacaan hasil pemeriksaan Spectofotometer λ 529 nm, menggunakan kurva standard.

F. Uji Ketahanan Osmotik (*Osmotic Fragilitas Test*)

Uji ini dilakukan untuk mengukur persentase sel yang mengalami hemolisis. Pada uji ketahanan osmotik, eritrosit dimasukkan ke dalam 14 tabung reaksi berisi larutan NaCl dengan konsentrasi larutan NaCl berbeda masing-masing tabung, dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. Konsentrasi larutan NaCl tertinggi 1 % dan terendah 0.1 %, tujuannya adalah untuk mengetahui pada konsentrasi NaCl berapa air yang masuk ke dalam eritrosit mengakibatkan sel membengkak dan pecah. Jika eritrosit dimasukkan dalam larutan hipotonis, misalnya larutan NaCl 0.50 %, maka air akan masuk ke dalam eritrosit sampai terjadi keadaan setimbang. Makin hipotonis larutan yang dipakai makin banyak air yang masuk, maka pada suatu saat dinding dari eritrosit tidak dapat lagi menahan bertambahnya volume akibat banyaknya air yang masuk, sehingga eritrosit eritrosit akan pecah dan terjadi hemolisis. Jika eritrosit sangat mudah pecah dalam larutan yang hipotonis dikatakan daya osmotisnya menurun. Sebaliknya, jika eritrosit sangat sukar mengalami hemolisis, artinya hemolisis baru terjadi dalam larutan yang sangat hipotonis dikatakan daya osmotisnya meningkat.

HASIL

A. Karakteristik Hewan Coba

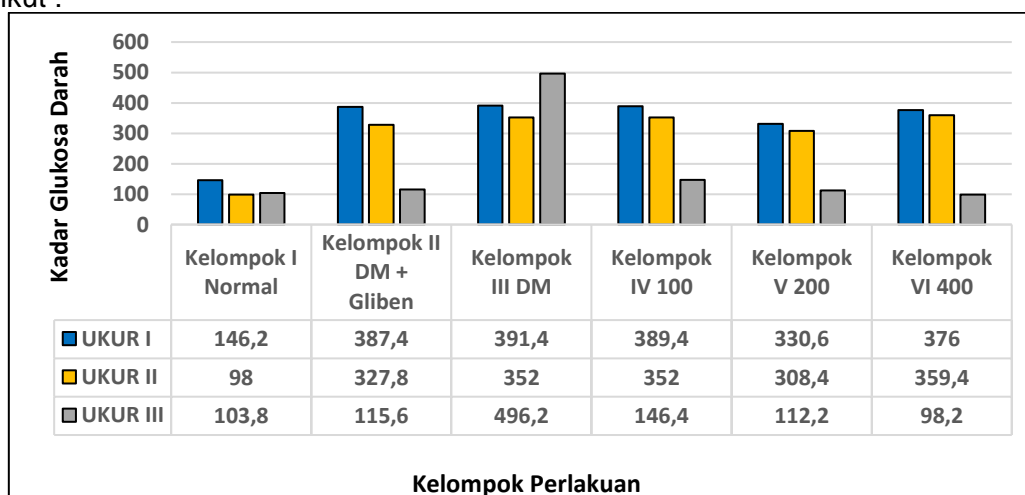
Hewan coba yang diteliti adalah tikus jantan jenis *Rattus Novergicus* Strain Wistar, jantan, umur 8 – 12 minggu BB awal 100 - 200 gram. Karakteristik hewan coba yang diteliti adalah rata-rata Berat Badan (BB) dan Kadar Gula Darah, yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 1. Karakteristik Rata-Rata Berat Badan (BB), Kadar Gula Darah Hewan Coba

Kelompok Perlakuan	Kelompok Normal	Kelompok DM + Obat	Kelompok DM	Kelompok Terapi Dosis 100 mg	Kelompok Terapi Dosis 200 mg	Kelompok Terapi Dosis 400 mg
	Berat Badan (gram)					
Sebelum DM	127,8	184,2	174	175,4	155,2	169,4
Saat DM	130,8	170,4	194,4	163,2	178,8	176,4
Setelah 5 hari Terapi						
Setelah 12 hari Terapi	123	180,8	145,6	175	174,8	183
Gula Darah (mg/dl)						
Sebelum DM	100,2	101,8	102,8	98,8	92,2	100,8
Saat DM	146,2	394,8	391,4	389,4	330,6	376
Setelah 5 hari Terapi	98	323	352	346	308,4	359,4
Setelah 12 hari Terapi	103,8	130,8	496,2	146,4	112,2	98,2

Pada tabel 1 terlihat perbedaan rata-rata berat badan tikus kelompok normal, kelompok DM ditambah obat, kelompok DM, Kelompok terapi Dosis I, kelompok terapi dosis 2, dengan kelompok terapi dosis 3, dimana nilai rata-rata berat badan tertinggi ada pada kelompok tikus DM ditambah obat. Perubahan significant terlihat pada berat badan tikus setelah 12 hari terapi, dimana rata-rata berat badan tertinggi yaitu 183 g, terlihat pada kelompok tikus yang mendapatkan terapi dosis 3. Penurunan kadar gula darah setelah terapi 12 hari juga menunjukkan ada perubahan yang significant, dimana kadar gula terendah terlihat pada kelompok terapi dosis 3, dengan nilai rata-rata gula darah sebesar 98,2 mg/dl.

Perubahan kadar gula darah tikus sebelum DM, saat DM dan setelah terapi ekstrak daun kersen pada masing-masing kelompok perlakuan terlihat pada gambar 1 berikut :



Gambar 1. Perubahan Kadar Gula Darah Tikus Sebelum DM, Saat DM dan setelah Terapi Ekstrak Daun Kersen Pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan

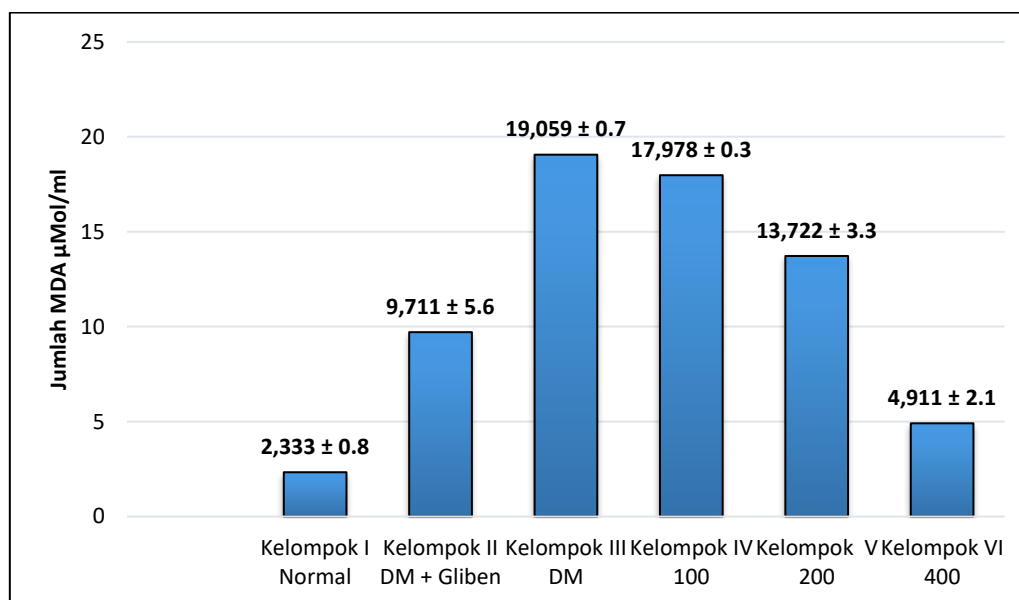
B. Kadar MDA Eritrosit ($\mu\text{mol/ml}$)

Kadar MDA eritrosit pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Rata-rata Kadar MDA Eritrosit ($\mu\text{mol/ml}$)

KELOMPOK PERLAKUAN	Kelompok Normal ($x \pm SD$)	Kelompok DM + Obat ($x \pm SD$)	Kelompok DM ($x \pm SD$)	Kelompok Terapi Dosis I ($x \pm SD$)	Kelompok Terapi Dosis II ($x \pm SD$)	Kelompok Terapi Dosis III ($x \pm SD$)
Kadar MDA Eritrosit ($\mu\text{mol/ml}$)	2,33 \pm 0,8	9,71 \pm 5,6	19,06 \pm 0,7	17,98 \pm 0,3	13,72 \pm 3,3	4,91 \pm 2,1
Kadar MDA Eritrosit ($\mu\text{mol/ml}$) Maksimal	3.50	19.72	19.89	18.33	19.67	8.50
Kadar MDA Eritrosit ($\mu\text{mol/ml}$) Minimal	1.67	6.61	18.28	17.67	12.11	3.11

Jumlah rata-rata kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) pada masing-masing kelompok tertinggi ditemukan pada kelompok tikus yang diperlakukan Diabetes Mellitus tanpa paparan ekstrak daun Kersen, dan jumlah terendah ditemukan pada kelompok Tikus Normal. Rata-rata MDA ($\mu\text{mol/ml}$) Pada masing-masing Kelompok terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata MDA ($\mu\text{mol/ml}$) pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan

Gambar 2 menunjukkan bahwa rata-rata kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) tertinggi berada pada perlakuan kelompok III yaitu kelompok tikus diabetes dengan nilai kadar MDA 19,06 \pm 0,7 $\mu\text{mol/ml}$. Sedangkan kadar terendah berada pada kelompok normal yaitu 2,33 \pm 0,8 $\mu\text{mol/ml}$.

C. Jumlah (%) Sel Hemolisis

Pengukuran *Osmotic Fragility Test (OFT)* dilakukan pada Kelompok Normal ; Kelompok Diabetes Mellitus dan Paparan Obat Anti Diabetes; Kelompok Diabetes Mellitus; Kelompok terapi Ekstrak Daun Kersen dosis 100 mg/kg bb/hr; Kelompok terapi Ekstrak Daun Kersen dosis 200 mg/kg bb/hr dan Kelompok terapi Ekstrak Daun Kersen dosis 400 mg/kg bb/hr. Hasil pengukuran *Osmotic Fragility Test (OFT)*, diketahui jumlah (%) sel eritrosit tikus yang mengalami hemolisis seperti terlihat pada tabel 3.

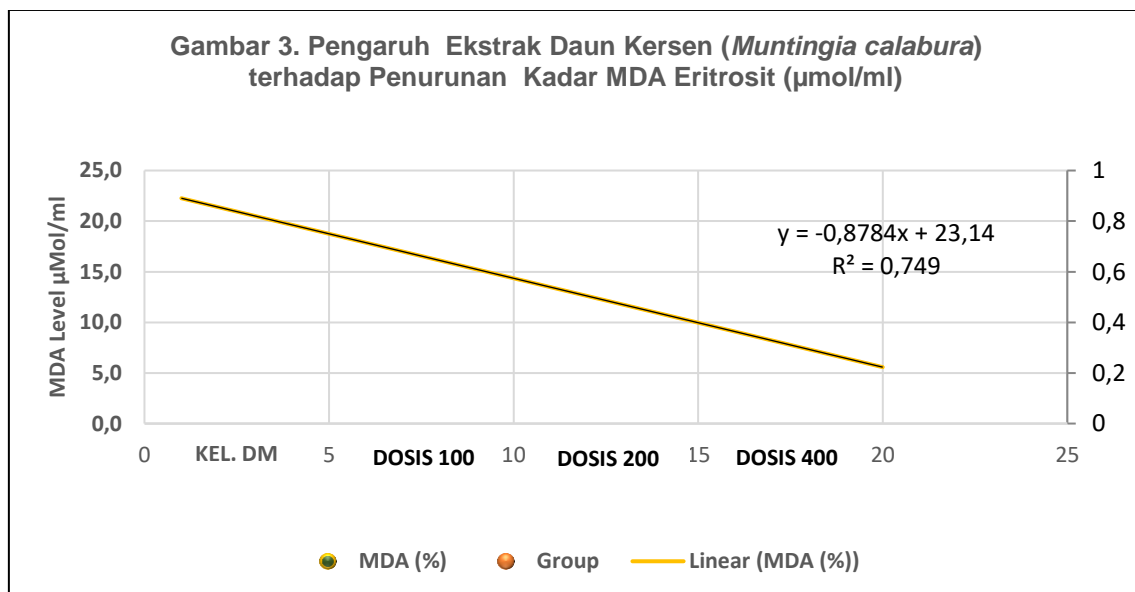
Tabel 3. Jumlah (%) Sel Hemolisis Masing-Masing Kelompok Perlakuan Pada Berbagai Konsentrasi NaCl

Aquadest	Konsentrasi NaCl (%)	Kelompok I Normal	Kelompok II DM + Obat	Kelompok III DM	Kelompok IV 100	Kelompok V 200	Kelompok VI 400
0.0	1.0	24.31±6.01	68.02±47.98	95.05±1.22	90.55±12.22	58.98±28.11	52.12±6.47
1.5	0.85	22.71±9.08	65.27±46.74	94.37±1.21	89.6±12.58	57.13±26.60	50.7±6.05
2.5	0.75	25.01±4.32	64.1±44.98	92.22±1.90	88.57±12.22	52.95±26.68	49.27±5.19
3.5	0.65	24.34±4.31	58.25±41.46	86.35±0.63	85.02±11.68	47.96±25.24	46.07±4.19
4.0	0.60	23.9±3.53	55.27±39.06	82.02±0.63	83.87±11.60	46.36±24.65	44.7±3.57
4.5	0.55	22.04±4.29	52.95±36.99	78.4±1.88	83.27±11.44	44.36±22.47	41.95±3.78
5.0	0.50	21.51±3.36	48.22±36.07	77.12±0.69	80.57±11.25	42.25±19.30	35.37±8.31
5.5	0.45	20.16±0.95	45.27±31.55	68.52±0.81	66.05±10.93	39.50±19.61	34.85±1.01
6.0	0.40	18.71±1.03	43.15±30.48	66.95±0.66	64.9±10.60	36.67±18.00	32.02±1.31
6.5	0.35	16.82±0.74	41.77±28.90	64.3±0.56	64.12±10.66	35.79±16.86	29.85±1.81
7.0	0.30	14.26±2.51	39.07±28.99	64.9±0.79	59.4±10.38	33.24±14.49	26.7±3.80
8.0	0.20	13.25±2.07	36.4±25.15	58.25±1.77	57.75±10.44	31.08±13.34	25.02±3.85
9.0	0.10	12.50±2.17	27.75±10.06	27.2±0.68	27.52±9.79	25.52±12.85	23.65±3.47
10.0	0.00	10.49±3.10	25.35±8.53	25.72±0.72	27.12±9.88	23.57±11.78	22.2±2.48

Tabel 3 menunjukkan persentase sel hemolisis tertinggi terdapat pada Kelompok III DM dengan nilai 95.05 ± 1.22 pada penggunaan NaCl dengan konsentrasi 1 %.

D. Uji Regresi Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Penurunan Kadar MDA Eritrosit ($\mu\text{mol/ml}$)

Hasil uji regresi membuktikan bahwa terdapat pengaruh yang bermakna antara pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap penurunan Kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) tikus yang diperlakukan Diabetes Mellitus ($F_{\text{hit}} > F_{\text{tab}}$) dengan nilai $p = 0,05$ (gambar 3).

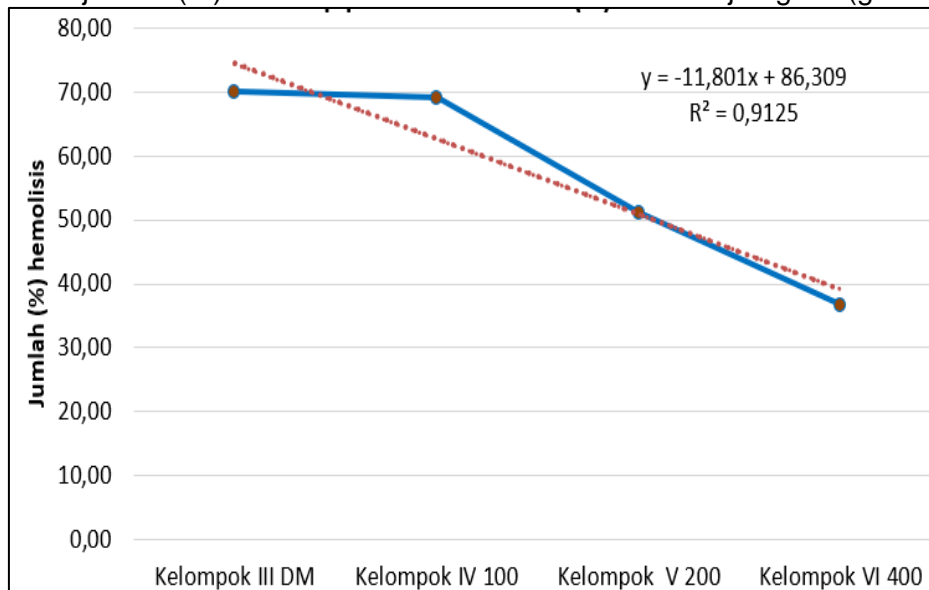


Gambar 3. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap penurunan Kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$)

Besarnya kekuatan pengaruh pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap penurunan Kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) tikus yang diperlakukan Diabetes, terbukti sangat kuat ($R = 0.725$) dengan koefisien standar 7.25 artinya setiap kenaikan satu satuan dosis Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terjadi penurunan Kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) tikus yang diperlakukan Diabetes sebesar 7.379 ($\mu\text{mol/ml}$).

E. Uji Regresi pengaruh Pemaparan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Penurunan Jumlah (%) Hemolisis

Pengaruh pemberian pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap perubahan jumlah (%) eritrosit Hemolisis dibuktikan melalui uji regresi (gambar 4).



Gambar 4. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap penurunan Jumlah (%) hemolisis.

Berdasarkan hasil yang terlihat pada gambar 4 dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh yang bermakna antara pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap penurunan jumlah (%) eritrosit Hemolisis Mellitus ($F_{\text{hit}} > F_{\text{tab}}$) dengan nilai $p = 0,05$.

Besarnya kekuatan pengaruh pemberian pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap perubahan jumlah (%) eritrosit hemolisis terbukti sangat kuat ($R = 0,86$) dengan koefisien standar 0.929, artinya setiap kenaikan satu satuan dosis Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terjadi penurunan jumlah (%) Hemolisis sebesar 9.29 % pada eritrosit tikus yang diperlakukan Diabetes mellitus.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan pengukuran kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) pada eritrosit tikus kontrol dan sampel yang diperlakukan Diabetes mellitus setelah pemaparan ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*), menghitung jumlah (%) sel eritrosit abnormal pada eritrosit tikus kontrol dan sampel yang diperlakukan Diabetes mellitus setelah pemaparan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) dan selanjutnya dilakukan analisis korelasi antara kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) eritrosit, jumlah (%) hemolisis dan jumlah (%) eritrosit abnormal tikus kontrol dan sampel yang diperlakukan Diabetes mellitus setelah pemaparan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*).

A. Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Penurunan Kadar MDA Eritrosit ($\mu\text{mol/ml}$)

Sel eritrosit memiliki membran sel lapisan ganda terdiri dari lipid dan protein yang mengelilingi sel dan memisahkan sitoplasma (isi sel) dari lingkungan sekitarnya. Lipid merupakan sawar yang mencegah gerakan bebas air dan senyawa larut dari air dari satu ruangan ke sel lainnya. Lipid yang memiliki rantai karbon ganda dapat bereaksi dengan oksidan, proses ini disebut peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid (lipid peroxidation) pada membran sel terjadi secara berantai, hasil akhir reaksi tersebut adalah hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel. Salah satu produk akhir dari peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda dalam sel adalah *Malondialdehyde* (MDA). MDA merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk [27].

Pada penelitian ini, hasil pemeriksaan kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) terendah ditemukan pada kelompok Normal sebesar $2,33 \mu\text{mol/ml}$ dan tertinggi ditemukan pada kelompok Diabetes Mellitus (Kontrol Negatif) sebesar $19,06 \mu\text{mol/ml}$, sementara pada kelompok tikus DM setelah pemaparan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) kadar MDA terendah sebesar $4,91 \mu\text{mol/ml}$ ditemukan pada kelompok VI dosis 400 mg/kg bb/hr , jumlah MDA tersebut jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan kadar MDA pada kelompok Kontrol Positif (DM + Obat Anti Diabetes) yaitu sebesar $7,91 \mu\text{mol/ml}$.

Lebih lanjut ditemukan bahwa terjadi lonjakan jumlah kadar MDA terbesar pada eritrosit tikus Kelompok Diabetes Mellitus, hal tersebut memungkinkan terjadi karena, pada kondisi hiperglikemia kronis pada Diabetes Mellitus dapat menginduksi terbentuknya radikal bebas dan penurunan sistem pertahanan oksidan sehingga terjadi stress oksidatif [28]. Uji beda ANOVA terhadap kadar MDA $\mu\text{mol/ml}$ menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok Kontrol Negatif (Diabetes Mellitus) dengan kelompok terapi Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) dosis ($100, 200, 400$) mg/kg bb/hr .

Hasil uji *Regresi* membuktikan koefisien korelasi pengaruh pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap penurunan kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) eritrosit tikus yang diperlakukan Diabetes Mellitus secara statistik sangat kuat nilai ($R = 0.725$) dengan koefisien standar $5,379$, artinya besarnya kekuatan pengaruh pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap penurunan kadar MDA sebesar 53% dan setiap kenaikan satu satuan dosis Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terjadi penurunan Kadar MDA ($\mu\text{mol/ml}$) tikus yang diperlakukan Diabetes sebesar $53,79 (\mu\text{mol/ml})$.

Penelitian yang dilakukan oleh Shinde M. A, *et al*, (2013) terhadap Aktivitas antioksidan dan anti hiperglikemik dari *Muntingia calabura* secara *in vivo* menemukan bahwa ekstrak etanol daun Kersen terbukti mengandung *alkaloid, steroids, flavonoids, fenolik, kuinon, saponin dan terpenoid*. Lebih lanjut Shinde mengungkapkan bahwa anti oksidan ekstrak daun *Muntingia calabura* kasar mampu memberikan perlindungan terhadap kerusakan sel akibat radikal bebas [29].

B. Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Penurunan Jumlah (%) Hemolisis

Hemolisis pada eritrosit terjadi apabila membran eritrosit pecah, sehingga hemoglobin bebas ke dalam medium sekelilingnya (plasma). Kerusakan membran eritrosit dapat disebabkan oleh antara lain penambahan larutan hipotonis atau hipertonis ke dalam darah, penurunan tekanan permukaan membran eritrosit, zat / unsur kimia tertentu, pemanasan atau pendinginan, serta kerapuhan karena ketuaan dalam sirkulasi darah. Fragilitas Eritrosit mengacu pada kecenderungan eritrosit (sel darah merah) untuk hemolisis (pecah) di bawah tekanan. Derajat atau proporsi hemolisis yang terjadi ketika sampel sel darah merah mengalami stres (biasanya tekanan fisik, dan paling sering stres osmotik dan /

atau mekanis), tergantung pada aplikasi serta jenis kerapuhan yang terlibat, jumlah stres yang diterapkan dan / atau signifikansi hemolisis yang dihasilkan dapat bervariasi.

Pada penelitian ini dilakukan Uji Ketahanan Osmotik (*Osmotic Fragilitas Test*), eritrosit dimasukkan ke dalam larutan NaCl yang konsentrasinya makin lama makin rendah, tujuannya adalah untuk mengetahui pada konsentrasi NaCl berapa air yang masuk ke dalam eritrosit mengakibatkan sel membengkak dan pecah. Jika eritrosit dimasukkan dalam larutan hipotonis, misalnya larutan NaCl 0.50 %, maka air akan masuk ke dalam eritrosit sampai terjadi keadaan setimbang. Makin hipotonis larutan yang dipakai makin banyak air yang masuk, maka pada suatu saat dinding dari eritrosit tidak dapat lagi menahan bertambahnya volume akibat banyaknya air yang masuk, sehingga eritrosit eritrosit akan pecah dan terjadi hemolisis. Jika eritrosit sangat mudah pecah dalam larutan yang hipotonis dikatakan daya osmotisnya menurun. Sebaliknya jika eritrosit sangat sukar mengalami hemolisis, artinya hemolisis baru terjadi dalam larutan yang sangat hipotonis dikatakan daya osmotisnya meningkat.

Setelah dilakukan pemeriksaan uji ketahanan membran eritrosit pada semua kelompok sampel, ditemukan bahwa terjadi kecenderungan penurunan jumlah (%) Hemolisis terbesar pada Kelompok terapi ekstrak daun kersen dosis 400 mg/kg bb/hr hampir mendekati kelompok normal. Sementara, kelompok terapi ekstrak daun kersen dosis 100 mg/kg bb/hr masih mendekati Kelompok Diabetes mellitus. Sementara, kelompok terapi ekstrak daun kersen dosis 200 mg/kg bb/hr berada pada posisi yang hampir bersamaan dengan , kelompok diabetes mellitus dan paparan obat anti diabetes. Hal tersebut memungkinkan terjadi mengingat tumbuhan *Muntingia calabura* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi utamanya pada daun dan batang, potensi antioksidan tersebut sering digunakan dalam pengobatan tradisional [15]. Antioksidan dapat mencegah atau memperlambat kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan ditemukan dalam banyak makanan, termasuk buah-buahan dan sayuran. Antioksidan dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas [30]. Penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang tinggi di semua tes yang diuji, dan menunjukkan adanya tanin dan saponin yang tinggi diikuti oleh *flavonoid* [31].

Flavonoid sebagai kelompok senyawa fenolik terdapat banyak pada jaringan Tumbuhan dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam [32]. Lebih lanjut ditemukan pula peran ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) terbukti sangat kuat ($R = 0,86$) dengan koefisien standar 2,586, artinya setiap kenaikan satu satuan dosis ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) terjadi penurunan jumlah (%) hemolisis sebesar 25,86 % pada eritrosit tikus yang diperlakukan Diabetes mellitus.

SIMPULAN

Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) memiliki potensi sebagai tanaman yang mampu memberikan perlindungan terhadap kerusakan sel akibat radikal bebas. Ekstrak daun kersen dapat menurunkan kadar MDA eritrosit tikus yang diperlakukan Diabetes Mellitus pada dosis optimum 400 mg/kg bb/hr dengan nilai rerata MDA $4,91 \pm 2,1$ ($\mu\text{mol/ml}$) (penurunan kadar MDA sebesar 29.492 % dari rerata kadar MDA) dan dapat menurunkan jumlah hemolisis eritrosit tikus yang diperlakukan Diabetes Mellitus pada dosis optimum 400 mg/kg bb/hr dengan nilai rerata hemolisis $36,75 \pm 10,6$ % (penurunan jumlah hemolisis eritrosit tikus sebesar 37.16 % dari nilai rerata hemolisis).

UCAPAN TERIMAKASIH

Tim peneliti mengucapkan terimakasih kepada Poltekkes Kemenkes Kemenkes Kendari yang telah Memberikan dana Penelitian. Selain itu peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada Dekan fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo atas kerja sama dan pemberian ijin penelitian di laboratorium Fakultas kedokteran.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Z. Punthakee, R. Goldenberg, and P. Katz, "2018 Clinical Practice Guidelines Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee," *Canadian journal of diabetes*, vol. 42, pp. 10–15, 2018, doi: 10.1016/j.jcjd.2017.10.003.
- [2] P. C. Chikezie, O. A. Ojiako, and A. C. Ogbuji, "Oxidative stress in diabetes mellitus," *International Journal of Biological Chemistry*, vol. 9, no. 3, pp. 92–109, 2015, doi: 10.3923/ijbc.2015.92.109.
- [3] S. Antwi-Baffour, R. Kyeremeh, S. O. Boateng, L. Annison, and M. A. Seidu, "Haematological parameters and lipid profile abnormalities among patients with Type-2 diabetes mellitus in Ghana," *Lipids in Health and Disease*, vol. 17, no. 1, p. 283, 2018, doi: 10.1186/s12944-018-0926-y.
- [4] M. Beltran Del Rio, M. Tiwari, L. I. Amodu, J. Cagliani, and H. L. Rodriguez Rilo, "Glycated Hemoglobin, Plasma Glucose, and Erythrocyte Aging," *Journal of Diabetes Science and Technology*, vol. 10, no. 6, pp. 1303–1307, 2016, doi: 10.1177/1932296816659885.
- [5] J. Viskupicova *et al.*, "Effect of high glucose concentrations on human erythrocytes in vitro," *Redox Biology*, vol. 5, pp. 381–387, 2015, doi: 10.1016/j.redox.2015.06.011.
- [6] R. K. Gupta *et al.*, "Oxidative Stress and Antioxidants in Disease and Cancer: A Review," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 15, no. 11, pp. 4405–4409, 2014, doi: 10.7314/APJCP.2014.15.11.4405.
- [7] J. Kim, H. Lee, and S. Shin, "Advances in the measurement of red blood cell deformability: A brief review," *Journal of Cellular Biotechnology*, vol. 1, no. 1, pp. 63–79, 2015, doi: 10.3233/JCB-15007.
- [8] B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals In Biology And Medicine*, Third. New York: Oxford University Press Inc., 1999.
- [9] P. B. T. V. of Expertise, "Biomarker Laboratory Testing Services," vol. 2. pp. 2–3, 2016.
- [10] L.-J. Yan, "Pathogenesis of Chronic Hyperglycemia: From Reductive Stress to Oxidative Stress," *Journal of Diabetes Research*, vol. 2014, pp. 1–11, 2014, doi: 10.1155/2014/137919.
- [11] A. B. Jebur, M. H. Mokhamer, and F. M. El-Demerdash, "A Review on Oxidative Stress and Role of Antioxidants in Diabetes Mellitus," *Austin Endocrinol Diabetes Case Rep*, vol. 1, no. 1, p. id1006, 2016.
- [12] F. Giacco, "Oxidative stress and diabetic complications," *Circulation Research*, vol. 107, no. 9, pp. 1058–1070, 2011, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.223545.Oxidative.
- [13] G. Celedón, G. González, E. A. Lissi, and G. Hidalgo, "Free radical-induced protein degradation of erythrocyte membrane is influenced by the localization of radical generation," *IUBMB Life*, vol. 51, no. 6, pp. 377–380, 2001, doi: 10.1080/152165401753366140.
- [14] F. A. Matough, S. B. Budin, Z. A. Hamid, N. Alwahaibi, and J. Mohamed, "في قدسكأل، "قداضلما داو لمارو يدسكاتلا داهجلا رود ير كسلا ضررم تافعاضم" vol. 12, no. February, pp. 5–18, 2012.

- [15] W. P. C. Buhian, R. O. Rubio, and J. J. Martin-Puzon, "Chromatographic fingerprinting and free-radical scavenging activity of ethanol extracts of *Muntingia calabura* L. leaves and stems," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 7, no. 2, pp. 139–143, 2017, doi: 10.1016/j.apjtb.2016.11.016.
- [16] S. Rattana and B. Sungthong, "Antioxidant Activities , Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Muntingia calabura* Crude Extract," no. February, 2018.
- [17] M. & R. D. Krishnaveni, "Qualitative and Quantitative Study of Phytochemicals in *Muntingia calabura* L. Leaf And Fruit World Journal of Pharmaceutical ReseaRch," *World Journal of Pharmaceutical Research World Journal of Pharmaceutical*, vol. 3, no. 6, pp. 1687–1696, 2014.
- [18] P. Surjowardojo, I. S. Thohari, and A. Ridhowi, "Quantitative and Qualitative Phytochemicals Analysis of *Muntingia calabura*," *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, vol. 4, no. 16, pp. 84–89, 2014.
- [19] W. P. C. Buhian, R. O. Rubio, D. L. Valle, and J. J. Martin-Puzon, "Bioactive metabolite profiles and antimicrobial activity of ethanolic extracts from *Muntingia calabura* L. leaves and stems," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 6, no. 8, pp. 682–685, 2016, doi: 10.1016/j.apjtb.2016.06.006.
- [20] N. D. Mahmood *et al.*, "Muntingia calabura: A review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observations," *Pharmaceutical Biology*, vol. 52, no. 12, pp. 1598–1623, 2014, doi: 10.3109/13880209.2014.908397.
- [21] V. J. Pramono and R. Santoso, "Pengaruh Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Streptozotocin (STZ)," *Jurnal Sain Veteriner*, vol. 32, no. 2, pp. 218–223, 2014.
- [22] Ida Kholifaturrokhmah and Ratna Damma Purnawati, "Pengaruh pemberian ekstrak buah (*Muntingia calabura* L.) dosis bertingkat terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit BALB/C yang hiperurisemia," *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, vol. 5, no. 3, pp. 199–209, 2015.
- [23] J. Sarimanah, I. Ketut Adnyana, E. Y. Sukandar, and N. F. Kurniati, "The antirheumatic activity of *Muntingia calabura* L. Leaves ethanol extract and its fraction," *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 10, no. 1, pp. 84–86, 2017, doi: 10.22159/ajpcr.2017.v10i1.14102.
- [24] K. Savitha and S. G. Annapoorani, "Material and characterization of new cellulosic fibers from *Muntingia calabura* stem," vol. 3, no. 7, pp. 726–730, 2017.
- [25] C. Chen *et al.*, "Therapeutic effects of soluble dietary fiber consumption on type 2 diabetes mellitus," *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol. 12, no. 2, pp. 1232–1242, 2016, doi: 10.3892/etm.2016.3377.
- [26] W. Aligita, E. Susilawati, I. K. Sukmawati, L. Holidayanti, and J. Riswanti, "Antidiabetic Activities of *Muntingia Calabura* L. Leaves Water Extract in Type 2 Diabetes Mellitus Animal Models," *The Indonesian Biomedical Journal*, vol. 10, no. 2, pp. 165–70, 2018, doi: 10.18585/inabj.v10i2.405.
- [27] J. M. C. Gutteridge and B. Halliwell, "The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems," *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 15, no. 4, pp. 129–135, 1990, doi: 10.1016/0968-0004(90)90206-Q.
- [28] M. Kumawat, I. Singh, N. Singh, and S. Kharb, "Lipid Peroxidation and Lipid Profile in Type II Diabetes Mellitus," *WebmedCentral*, vol. 3, no. 3, pp. 1–9, 2012.
- [29] Y. D. B. and C. A. Aruna Sindhe M, "Antioxidant and in vivo antihyperglycaemic activity of *muntingia calabura* extracts," vol. 5, no. 3, pp. 427–435, 2013.
- [30] S. Kumalaningsih, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas (Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan)*. Surabaya: Trubus Agrisana, 2006.

- [31] Z. A. Zakaria, T. Balan, V. Suppaiah, S. Ahmad, and F. Jamaludin, "Mechanism(s) of action involved in the gastroprotective activity of *Muntingia calabura*," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 151, no. 3, pp. 1184–1193, 2014, doi: 10.1016/j.jep.2013.12.045.
- [32] R. Vinayagam and B. Xu, "Antidiabetic properties of dietary flavonoids: A cellular mechanism review," *Nutrition and Metabolism*, vol. 12, no. 1, pp. 1–20, 2015, doi: 10.1186/s12986-015-0057-7.