

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Metode Penyesuaian Dengan Studi Literature**

##### **1. Deskripsi Metode Studi Literature**

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu dengan menggunakan metode studi literature. Studi literature merupakan metode penelitian berisi uraian tentang teori, temuan dan bahan penelitian lain yang diperoleh dari berbagai sumber dan bukti baik dari hasil penelitian maupun pendapat ahli untuk dijadikan landasan kegiatan penelitian. Studi literatur ini bertujuan untuk memperoleh simpulan umum dengan cara merekapitulasi dua atau lebih data primer dari penelitian sejenis lalu menganalisisnya sehingga diperoleh paduan data. Metode studi literatur ini memerlukan kemampuan dalam mencari literatur, menyeleksi, menganalisis serta menerjemahkan hasilnya, pendekatan studi literatur perlu dilakukan secara terstruktur agar mendapatkan artikel penelitian yang berkualitas (Barbara, 2020) . Proses dalam melakukan studi literatur untuk penelitian ini meliputi :

- a. Mencari artikel penelitian sesuai dengan topik penelitian yang akan dilaksanakan
- b. Melakukan observasi dan penilaian dengan meresume mengenai topic terkait yang akan diteliti dari artikel-artikel terpilih.

- c. Melakukan analisa terhadap artikel-artikel yang terpilih yang merujuk pada kesimpulan umum dari masing- masing jurnal
- d. Memberikan kesimpulan dari hasil perbandingan jurnal terpilih disesuaikan dengan tujuan penelitian.

Pengumpulan artikel pada studi literature ini menggunakan kata kunci yang dipilih yakni : daun kelor, antidiabetes dan kadar glukosa. Sumber pengumpulan artikel yang digunakan melalui : google scholar, NCBI PubMed dan Elsevier. Literature review ini menggunakan artikel terbitan tahun 2011-2021 yang dapat diakses fulltext dalam format PDF. Kriteria artikel yang akan digunakan adalah artikel penelitian berbahasa Inggris dan Indonesia dengan subyek ekstrak daun kelor sebagai antidiabetes. Artikel yang dikumpulkan memuat kriteria inklusi dan eksklusi yang bertujuan untuk menyeleksi artikel dan penilaian kualitas artikel yang relevan dengan topik penelitian. Berikut kriteria inklusi dan eksklusi yaitu :

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi yaitu ciri-ciri artikel yang akan dipilih peneliti untuk dimasukkan dalam kriteria artikel untuk dilakukan review.

Kriteria inklusi pada studi literatur ini adalah :

- 1) Artikel dipublikasikan pada tahun 2011-2021 (fulltext dan PDF)
- 2) Analisis secara in vivo

3) Artikel nasional terakreditasi di SINTA (Science and Technology Index)

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi yaitu ciri-ciri artikel yang tidak termasuk dalam kriteria artikel untuk dilakukan review. Kriteria eksklusi pada studi literatur ini adalah :

- 1) Artikel dipublikasikan kurang dari tahun 2011
- 2) Artikel nasional tidak terakreditasi di SINTA (Science and Technology Index)
- 3) Artikel merupakan sebuah review artikel

Artikel yang telah dilakukan pencarian sebanyak 7 artikel yang membahas tentang ekstrak daun kelor sebagai antidiabetes, dari 7 artikel tersebut diseleksi agar sesuai dengan tema, kemudian dilakukan perbandingan abstrak untuk menentukan artikel mana yang layak untuk studi literatur. Kemudian diseleksi lagi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi, sehingga total artikel yang terpilih sebanyak 5 artikel yang terdiri dari 5 artikel internasional.

## **B. Informasi Jumlah dan Jenis Artikel**

Penelitian ini menggunakan 5 (lima) jurnal acuan yang terdiri dari 5 jurnal internasional yang digunakan sebagai dasar utama penyusunan hasil dan pembahasan yang akan di analisa. Pencarian jurnal dilakukan melalui google scholar, NCBI PubMed dan elsevier. Jurnal internasional telah dilakukan pengecekan melalui Scopus dan Scimago Journal. Berikut judul dari kelima artikel tersebut :

1. Artikel 1 : Extract of *Moringa oleifera* leaves ameliorates streptozotocin-induced Diabetes mellitus in adult rats
2. Artikel 2 : *Moringa oleifera* leaf extract ameliorates alloxan induced diabetes in rats by regeneration of  $\beta$  cells and reduction of pyruvate carboxylase expression
3. Artikel 3 : Methanolic extract of *Moringa oleifera* leaves improves glucose tolerance, glycogen synthesis and lipid metabolism in alloxan-induced diabetic rats
4. Artikel 4 : Anti-diabetic activity-guided screening of aqueous-ethanol *Moringa oleifera* extracts and fractions: Identification of marker compounds
5. Artikel 5 : Effect of *Moringa oleifera* consumption on diabetic rats

**Tabel 3.1. Jurnal Internasional**

No	Nama Artikel	Akreditasi	H-Index	Quartil	SJR	ISSN
1.	Acta Histochemica	Scopus dan Scimago	47	Q2	0.733	P-ISSN:0065-1281 E-ISSN:1618-0372
2.	Biochemistry and Cell Biology	Scopus dan Scimago	89	Q2	0.822	P-ISSN:0829-8211 E-ISSN:1208-6002
3.	Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology	Scopus dan Scimago	31	Q3	0.355	P-ISSN:0792-6855 E-ISSN:2191-0286
4.	Tropical Journal of Pharmaceutical Research	Scopus dan Scimago	33	Q3	0.191	P-ISSN 1596-5996 E-ISSN 1596-9827
5.	BMC Complementary and Alternative medicine	Scopus dan Scimago	80	Q1	0.741	1472-6882

### C. Isi Artikel

#### 1.Artikel pertama

Judul Artkel	:	Extract of Moringa oleifera leaves ameliorates streptozotocin-induced Diabetes mellitus in adult rats
Nama Jurnal	:	Acta Histochemica
Penulis Artikel	:	Yassa, Hanan Dawd; Tohamyoo,Adel Fathy
Penerbit	:	Elsevier GmbH.

Volume dan Halaman : Volume 116 (5) Halaman 844-854

Tahun Terbit : 2014

Terakreditasi : Scopus dan Scimago

H-index : 47

### **ISI ARTIKEL**

Tujuan Penelitian : Menilai kemungkinan efek antioksidan dan antidiabetes dari ekstrak air daun *M. oleifera* dalam mengobati tikus albino diabetes yang diinduksi streptozotocin

Metode Penelitian :

- Desain : Studi eksperimental laboratorium, dengan dosis ekstrak air *M. oleifera* sebanyak 200mg/kg. Parameter yang digunakan berat-badan, malonaldehid, kadar glukosa darah dan hispatologi.

- Populasi dan Sampel : Populasi dalam penelitian ini adalah Tanaman Kelor dan dan juga hewan uji berupa tikus.

1 Tanaman kelor yang digunakan adalah Daun Kelor (*Moringa*

*oleivera L)* yang diperoleh dari "Pertanian Perusahaan Pengembangan Pertanian" di Lembah Senor, Provinsi Beni Suef, Mesir.

2 Hewan ujinya yaitu 40 ekor tikus albino jantan normoglikemik dewasa.

- Instrumental : Mesin penggiling, saringan, pisau kaca, Leica Ultracut UCT ultra microtome, Mikroskop elektron transmisi JEOL (JEM-1400, JEOL, Tokyo, Jepang), spektrofotometer berkas ganda (Jenway 6850; Bibby Scientific, Staffs, UK), penangas air, sistem komputer penganalisis gambar Leica Qwin 500 (Leica Imaging Systems, Cambridge, Inggris).

- Metode Analisis : Menggunakan metode infusa dengan pelarutnya air mendidih. Untuk pengukuran kadar glukosa plasma dilakukan pada hari yang sama

menggunakan Glucose Colorimetric Assay Kit.

Hasil Penelitian : Tingkat kadar glukosa plasma dari kelompok kontrol dan kontrol palsu menunjukkan nilai normal selama penelitian, oleh karena itu, kelompok kontrol digunakan untuk perbandingan dengan kelompok lain. Namun, kadar glukosa plasma kelompok STZ, menunjukkan peningkatan yang signifikan delapan minggu setelah injeksi STZ ( $p < 0,05$ ), sedangkan pada kelompok M. oleifera-STZ rata-rata kadar glukosa plasma puasa menurun secara signifikan ( $p < 0,05$ )

M.oleifera pengobatan secara signifikan memperbaiki kadar glukosa plasma yang berubah (dari 380% menjadi 145%), mengurangi glutathione (dari 22% menjadi 73%) dan malondialdehid (dari 385% menjadi 186%) dibandingkan dengan tingkat kontrol.



**Tabel 3.2. Perbandingan Kadar FPG (mg/dl) Diantara Kelompok Yang Diteliti (Dawood & Fathy, 2014)**

Kelompok	Rata-rata ± SD	<i>p</i> -Nilai
Kelompok Kontrol	88.9 ± 11.39	<i>P</i> <0.227 <sup>a</sup>
Kelompok Kontrol Tiruan	83.6 ± 7.11	<i>P</i> <0.0001 <sup>a</sup>
Kelompok-STZ	339.0 ± 35.12	<i>P</i> <0.0001 <sup>a</sup>
Kelompok-M. oleifera-STZ	129.2 ± 21.31	<i>P</i> <0.0001 <sup>b</sup>

Keterangan

*P*< 0.05 adalah signifikan

<sup>a</sup>: dibandingkan kelompok kontrol

<sup>b</sup>: kelompok STZ/MO versus kelompok STZ

Nilai dinyatakan sebagai (rata-rata±SD) dari 10 ekor tikus

**Tabel 3.3. Perbandingan Kadar GSH (nmol/g jaringan) dan LPO (nmol MDA/g jaringan) Diantara Kelompok Yang Diteliti (Dawood & Fathy, 2014)**

Kelompok	GSH (nmol/g jaringan)		LPO (nmol MDA/g jaringan)	
	Rata-rata ± SD	<i>p</i> -Nilai	Rata-rata ± SD	<i>p</i> -Nilai
Kelompok Kontrol	3.81 ± 0.4	<i>P</i> <0.216 <sup>a</sup>	2.57 ± 0.39	<i>P</i> <0.227 <sup>a</sup>
Kelompok Kontrol Tiruan	4.06 ± 0.53	<i>P</i> <0.0001 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.25	<i>P</i> <0.0001 <sup>a</sup>
Kelompok-STZ	0.85 ± 0.24	<i>P</i> <0.0001 <sup>a</sup>	9.92 ± 1.25	<i>P</i> <0.0001 <sup>a</sup>
Kelompok M.Oleifera-STZ	2.79 ± 0.51	<i>P</i> <0.0001 <sup>b</sup>	4.97 ± 0.79	<i>P</i> <0.0001 <sup>b</sup>

Keterangan

*P*< 0.05 adalah signifikan

<sup>a</sup>: dibandingkan kelompok kontrol

<sup>b</sup>: kelompok STZ/MO versus kelompok STZ

Nilai dinyatakan sebagai (rata-rata±SD) dari 10 ekor tikus

Kesimpulan : Ekstrak berair daun kelor *M. oleifera* melindungi sel- terhadap kerusakan yang disebabkan oleh ROS dengan meningkatkan pertahanan antioksidan

seluler dan meminimalkan hiperglikemia pada diabetes yang diinduksi STZ sebagaimana dibuktikan secara histologis, histokimia, morfometrik dan ultrastruktural. Temuan eksperimental ini dengan jelas menunjukkan daun *M. oleifera* dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami yang penting dengan potensi antidiabetes dan dapat digunakan sebagai bahan tambahan makanan atau sebagai makanan fungsional dan dalam industri biofarmasi.

## **2.Artikel kedua**

Judul Artkel : *Moringa oleifera* leaf extract ameliorates alloxan induced diabetes in rats by regeneration of  $\beta$  cells and reduction of pyruvate carboxylase expression

Nama Jurnal : Biochemistry and Cell Biology

Penulis Artikel : Abd El Latif, Amira El Bialy, Badr El Said Mahboub, Hamada Dahi Abd

Eldaim, Mabrouk Attia  
Penerbit : Biochem. Cell Biol  
Volume dan Halaman : Volume 92 (5) Halaman 413-419  
Tahun Terbit : 2014  
Terakreditasi : Scopus dan Scimago  
H-index : 89

### **ISI ARTIKEL**

Tujuan Penelitian : Untuk menyelidiki bagaimana ekstrak air dari daun kelor dapat mengobati diabetes

Metode Penelitian :

- Desain : Studi eksperimental laboratorium, dengan dosis ekstrak encer daun *M. oleivera* sebanyak 250 mg/kg. Parameter yang digunakan berat-badan, malondialdehyde, trigliserida dan histopatologi.
- Populasi dan Sampel : Populasi dalam penelitian ini adalah Tanaman Kelor dan hewan uji berupa tikus.

- 1 Tanaman kelor yang digunakan adalah Daun Kelor (*Moringa oleivera L*) yang diperoleh dari Kebun Raya, Kota Sadat , Mesir.
- 2 Hewan ujinya yaitu tikus Wistar albino betina sebanyak 30 ekor.

- Instrumen : Mesin penggiling, Kertas saring Whatman No. 1, Cawan Petri, Oven,

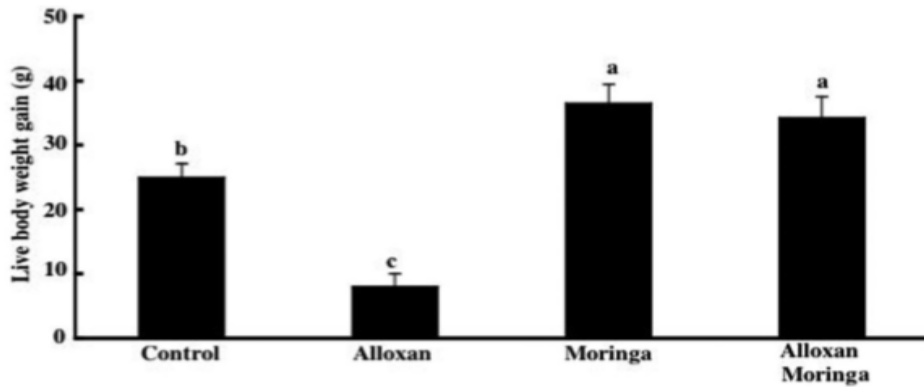
- Metode Analisis : Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarutnya aquadest. Tikus dengan berat badan tercatat dibagi menjadi 4 kelompok eksperimen yang masing-masing terdiri dari 5 tikus. Setelah tanda-tanda diabetes menghilang, pada hari ke 18 dari awal pengobatan semua tikus dipuaskan semalaman.

Alloxan monohydrate (Sigma, St. Louis, MI, USA) digunakan untuk menginduksi diabetes pada tikus. Alloxan dilarutkan dalam 0,9% normal saline dan disuntikkan secara

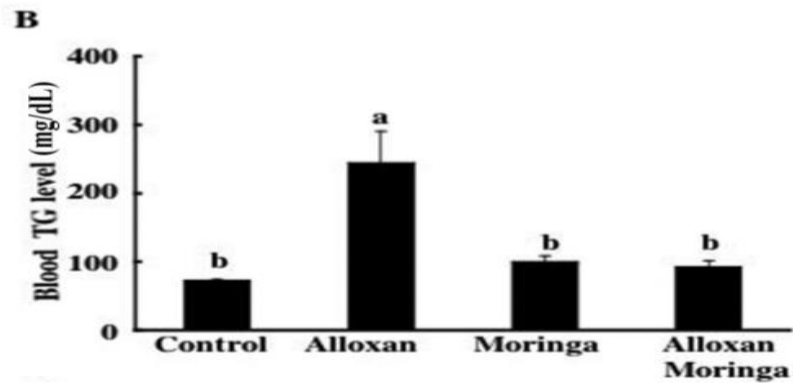
intraperitoneal dalam dosis tunggal 100mg/kgBB, untuk tikus yang berpuasa semalaman. Tikus menunjukkan penurunan berat badan dengan munculnya tanda polidipsia, poliuria, dan polifagia 4 hari setelah injeksi aloksan. Kadar glukosa serum diukur dan tikus dengan kadar glukosa darah puasa >150mg/dL dianggap diabetes. Pengobatan tikus diabetes dan nondiabetes dengan ekstrak *M. oleifera* dimulai setelah munculnya tanda-tanda diabetes (4 hari setelah injeksi aloksan).

Hasil Penelitian : Ekstrak daun *M. oleifer* menangkal efek diabetes yang diinduksi aloksan pada tikus karena menormalkan peningkatan kadar serum glukosa, trigliserida, kolesterol, dan malonaldehid, dan ekspresi mRNA yang dinormalisasi dari enzim glukoneogenik piruvat karboksilase di jaringan hati. Ekstrak daun encer *M. oleivera* meningkatkan

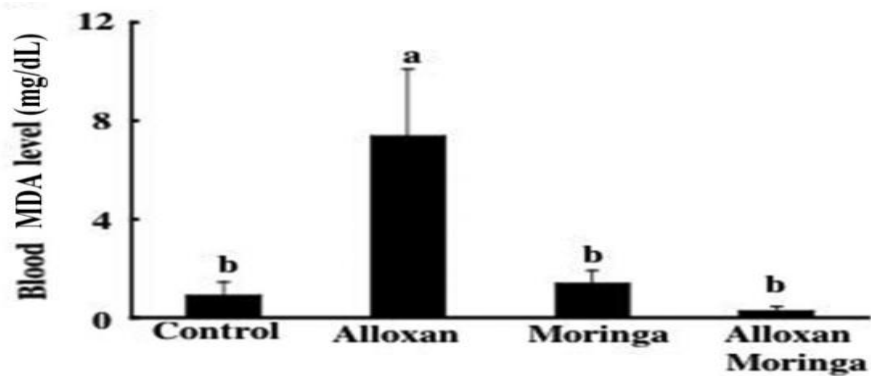
penambahan berat badan tikus pada kelompok 3 (nondiabetes) dan kelompok 4 (diabetes) bila dibandingkan dengan kelompok 1 dan 2. *M. oleivera* menormalkan ekspresi mRNA asam lemak sintase. Ekspresi asam lemak sintase berkurang dari ekspresi piruvat karboksilase di hati tikus diabetes. Selain itu, mengembalikan struktur histologis normal hati dan pankreas yang rusak oleh aloksan pada tikus diabetes. Penelitian ini mengungkapkan bahwa ekstrak air *M. oleifera* daun memiliki efek hipoglikemik yang kuat melalui normalisasi enzim karboksilase piruvat hati yang meningkat dan regenerasi hepatosit yang rusak dan sel pankreas melalui sifat antioksidannya



Gambar 3.1. Pengaruh Ekstrak *M. oleifera* Terhadap Berat Badan Tikus (Abd et al., 2014)



Gambar 3.2. Pengaruh Ekstrak *M. oleifera* Terhadap Kadar Trigliserida (Abd et al., 2014)



Gambar 3.3. Parameter Hasil Penurunan Kadar Malondialdehide Efek pemberian Ekstrak *M. oleifera* Pada Tikus (Abd et al., 2014)

Kesimpulan : *M. oleivera* ekstrak daun encer dapat menurunkan hiperglikemia pada tikus yang diinduksi aloksan, yaitu dengan meminimalkan glukoneogenesis dan meregenerasi hepatosit dan sel pankreas yang rusak, yang mendukung penggunaannya sebagai agen antidiabetik potensial. Tetapi penelitian lebih lanjut dari mekanisme hipoglikemik daun kelor masih sangat diperlukan.

### 3. Artikel ketiga

Judul Artkel : Methanolic extract of *Moringa oleifera* leaves improves glucose tolerance, glycogen synthesis and lipid metabolism in alloxan-induced diabetic rats

Nama Jurnal : Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology

Penulis Artikel : Olayaki, Luqman A.Irekpita, Justice E.Yakubu, Musa T.Ojo, Opeolu O.

Penerbit : DE GRUYTER

Volume dan Halaman : Volume 26 (6) Halaman 585-593

Tahun Terbit : 2015



Terakreditasi : Scopus dan Scimago

H-index : 31

### **ISI ARTIKEL**

Tujuan Penelitian : Untuk mengetahui pengaruh pemberian oral ekstrak *M. oleivera* pada toleransi glukosa, sintesis glikogen, dan metabolisme lipid pada tikus dengan diabetes yang diinduksi aloksan.

Metode Penelitian :

- Desain : Studi eksperimental laboratorium, dengan dosis ekstrak *M. oleivera* sebanyak 300mg/kgBB dan 600mg/kgBB. Parameter yang diukur berat badan, toleransi glukosa, dan insulin plasma.

- Populasi dan Sampel : Populasi dalam penelitian ini adalah Tanaman Kelor dan dan juga hewan uji berupa tikus.

1 Tanaman kelor yang digunakan adalah Daun Kelor (*Moringa oleivera L*) yang diperoleh dari

Universitas Ilorin Moringa Farm,  
dan identifikasi botani dilakukan  
oleh para ahli di Departemen  
Botani Universitas Ilorin,  
Nigeria. .

2 Hewan ujinya yaitu Tikus Wistar  
jantan.

- Instrumental : Mortir, alu, kertas saring whiteman No.1, rotator evaporator, accu- check.
  
- Metode Analisi : Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut methanol. Tikus Wistar jantan ditempatkan di kandang individu yang berventilasi baik dengan siklus 12 jam gelap terang. Setelah 1 minggu aklimatisasi dan setelah puasa semalaman, tikus yang terpilih diinduksi, menggunakan alloxan injeksi ip dosis tunggal 120mg/kgBB dalam buffer sitrat 0,05M untuk menginduksi diabetes. Setelah 72 jam setelah injeksi, konsentrasi glukosa darah diukur untuk

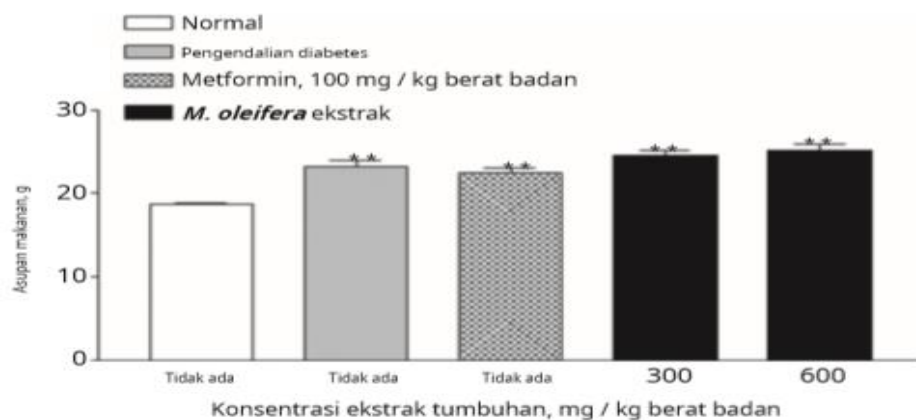
mengkonfirmasi induksi diabetes mellitus. Tikus dengan kadar glukosa darah  $\geq 250$  mg/dL dianggap diabetes dan dimasukkan dalam penelitian.

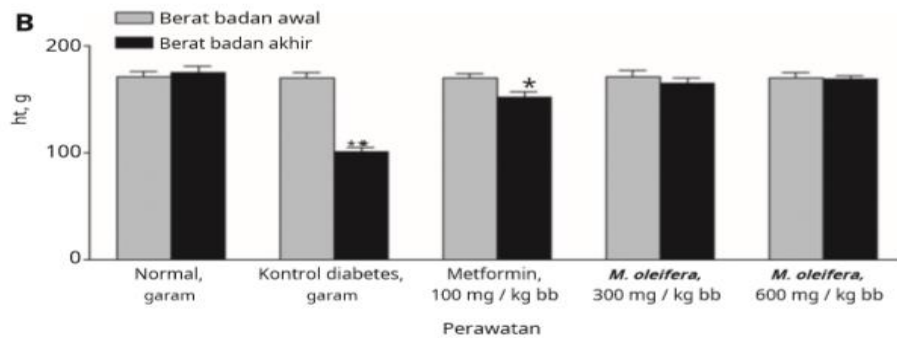
Hasil Penelitian : Pemberian ekstrak daun *M. oleivera* mempengaruhi asupan makanan. Asupan makanan pada tikus yang diinduksi aloxan secara signifikan lebih besar disbanding tikus normal. Meski diawal keduanya memiliki berat badan yang sama tapi di akhir berat badan tikus diabetes yang tidak diobati berkurang 41% selama periode percobaan. Tetapi secara signifikan ( $p < 0,01$ ) meningkatkan toleransi glukosa, dan meningkatkan kadar insulin serum 1,3-1,7 kali lipat ( $p < 0,01$ ). Pengobatan ekstrak daun *M. oleivera* secara signifikan ( $p < 0,001$ ) mengurangi konsentrasi serum trigliserida, kolesterol total, dan lipoprotein densitas rendah(LDL) -kolesterol dan

peningkatan kadar serum lipoprotein densitas tinggi (HDL) sebesar 2,4- hingga 3,2 kali lipat ( $p < 0,001$ ). Aktivitas sintase glikogen dan kandungan glikogen lebih tinggi pada tikus yang diberi ekstrak daun *M. oleivera* dibandingkan dengan tikus yang menerima metformin atau garam dan ekstraknya meningkatkan serapan glukosa sebesar 49% – 59% ( $p < 0,01$ ).

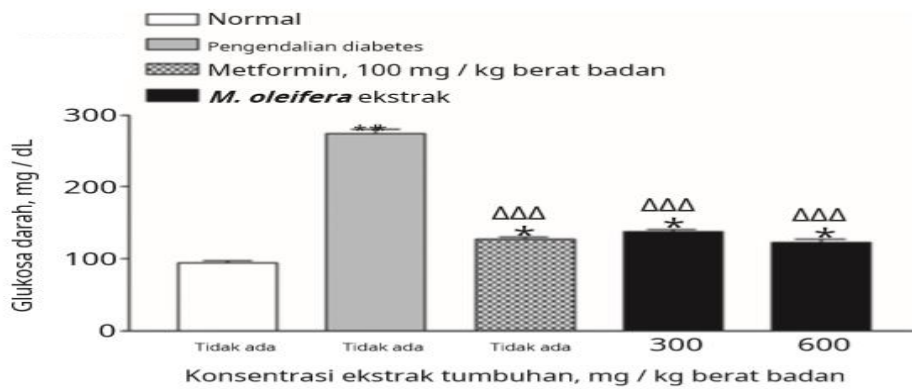
Efek ekstrak daun *M. oleivera* terhadap konsentrasi insulin menunjukkan bahwa kadar glukosa darah pada tikus yang tidak diobati dengan diabetes yang diinduksi aloksan meningkat sebesar 290%. pemberian ekstrak *M. oleifera* selama 6minggu menghasilkan efek hipoglikemik yang signifikan, menghambat peningkatan konsentrasi glukosa darah sebesar 76% ( $p < 0,001$ ) dan 84% ( $p < 0,001$ ) pada 300 dan 600 mg/kgBB, masing-masing. Diharapkan,

konsentrasi insulin pada tikus diabetes yang tidak diobati adalah 46% lebih rendah dibandingkan dengan tikus normal pada akhir penelitian. Namun bila dibandingkan dengan tikus diabetes yang tidak diobati, konsentrasi insulin plasma pada tikus yang diobati dengan ekstrak *M. oleifera* meningkat 1,6 kali lipat ( $p < 0,01$ ) pada 300 mg / kg berat badan dan 1,7 kali lipat ( $p < 0,01$ ) pada 600 mg/kgBB. Peningkatan ringan konsentrasi insulin plasma juga diamati pada tikus yang diobati dengan metformin (1,3 kali lipat,  $p < 0,05$ ).

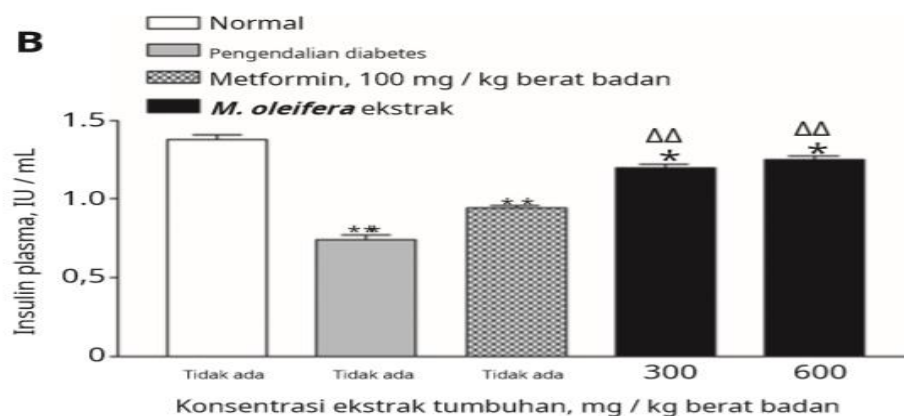




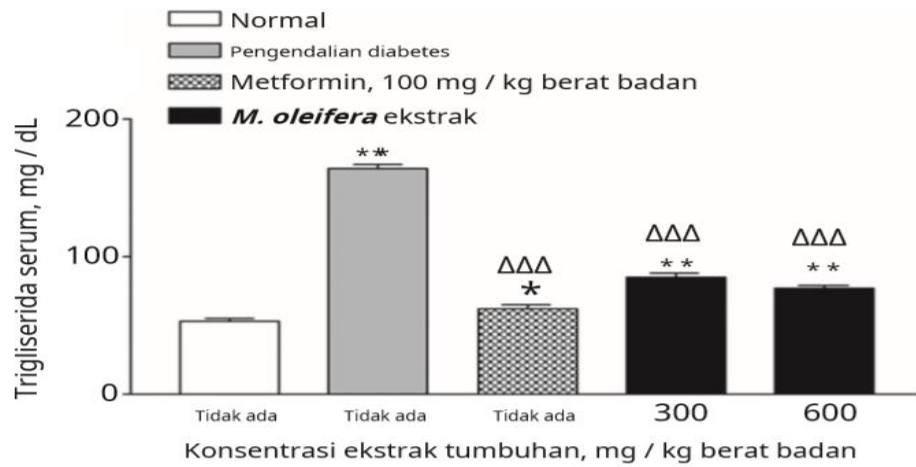
**Gambar 3.4.** Pengaruh Pemberian Ekstrak *M. oleifera* Terhadap Asupan Makanan Kumulatif (A) dan Berat Badan (B) Pada Tikus Yang Diinduksi Aloxan (Olayaki et al., 2015)



**Gambar 3.5.** Ekstrak *M. oleifera* Pada Glukosa Darah Pada Tikus Diabetes Normal Yang Diinduksi Aloxan (Olayaki et al., 2015).



**Gambar 3.6.** Efek Ekstrak *M. oleifera* Pada Insulin Plasma Pada Tikus Diabetes Normal Yang Diinduksi Aloxan (Olayaki et al., 2015).



**Gambar 3.7. Efek Ekstrak *M. oleifera* Pada Serum Trigliserida Pada Tikus Diabetes Normal Yang Diinduksi Aloxan (Olayaki et al., 2015).**

Kesimpulan : Pemberian oral ekstrak methanol daun *M. oleifera* secara signifikan mengurangi konsentrasi glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan dengan merangsang sintesis glikogen hati dan otot, meningkatkan sekresi insulin, dan meningkatkan pengambilan glukosa di hati dan jaringan otot. Selain itu, perlakuan dengan ekstrak juga menghasilkan peningkatan profil lipid tikus alloxan diabetes. Efek ini menunjukkan efek menguntungkan yang potensial dari *M.*

*oleifera* konsumsi pada penderita diabetes dan dorong studi lebih lanjut tentang mekanisme molekuler dari tindakan antidiabetik dari ekstrak tumbuhan.

#### 4. Artikel keempat

Judul Artkel : Anti-diabetic activity-guided screening of aqueous-ethanol *Moringa oleifera* extracts and fractions: Identification of marker compounds

Nama Jurnal : Tropical Journal of Pharmaceutical Research

Penulis Artikel : Irfan, Hafiz Muhammad Asmawi, Mohd Zaini Khan, Nurzalina Abdul Karim Sadikun, Amirin Mordi, Mohd Nizam

Penerbit : University of Benin

Volume dan Halaman : Volume 16 (3) Halaman 543-552

Tahun Terbit : 2017

Terakreditasi : Scopus dan Scimago

H-index : 33



## ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Untuk mengeksplorasi efek anti-diabetes dari ekstrak dan fraksi *Moringa oleifera*, dan untuk mengidentifikasi senyawa aktif / penanda mereka.

Metode Penelitian :

- Desain : Studi Eksperimental Laboratorium, dengan dosis ekstrak etanol air *M. oleifera* sebanyak 1.000mg/kg. Parameter yang diukur kadar glukosa darah.

- Populasi dan Sampel : Populasi dalam penelitian ini adalah Tanaman Kelor dan dan juga hewan uji berupa tikus.

1 Tanaman kelor yang digunakan adalah Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) yang diperoleh dari Harbagus Sdn. Bhd., Pulau Pinang, Malaysia.

2 Hewan ujinya yaitu tikus Sprague Dawley (SD) jantan dewasa berumur 8 - 9 minggu

(230 ± 30 g berat badan).

- Instrumental : Evaporator putar (Buchi Labotechnik, CH- 9230 Flawil Swiss), Manajer Kromatografi Planar WinCATS (Merck, Jerman), mesin penggiling, oven.
  
- Metode Analisa : Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelut etanol dan air 100% dari maserasi. Pengujian dilakukan terhadap 42 ekor tikus SD jantan yang digunakan untuk mengukur aktivitas hipoglikemik. Kelompok kontrol negatif (NC) dan kontrol positif (PC) masing-masing diberi air suling (10 mL/kg) dan air yang mengandung glibenklamida (10 mg/kg). Kelompok perlakuan diberi etanol 95, 75, 50 dan 25% (v / v) dan ekstrak air 100% (1.000 mg/kg secara oral). Setelah puasa semalam 14 jam, kadar glukosa darah puasa (FBG) ditentukan; perawatan kemudian diterapkan, dan kadar glukosa diukur 1, 3, 5 dan 7 jam kemudian.

- **Aktivitas anti-hiperglikemik pada tikus yang diobati dengan STZ: studi dosis tunggal**

Diabetes diinduksi dengan injeksi intraperitoneal streptozotocin (45 mg/kgBB) setelah puasa semalaman. Glukosa ditambahkan ke air minum (sampai 5%, b/v) selama 12 jam untuk mengurangi kematian akibat hipoglikemia.

- **Aktivitas anti-hiperglikemik pada tikus yang diobati dengan STZ: studi dosis ganda**

Tikus diabetes diobati dengan M. oleifera ekstrak etanol air (1.000 mg / kg) sekali sehari selama 14 hari. Kadar BG ditentukan pada hari ke-0, 7 dan 14 setelah puasa semalaman.

- **Fraksinasi (ekstrak cair-cair)**

Ekstrak paling aktif (95% [v / v] etanol) dari M. oleifera menjadi sasaran fraksinasi lebih lanjut. Ekstrak dipartisi terlebih dahulu

dengan akuades, kemudian (secara berseri) dengan heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol, dalam corong pisah. Kelima fraksi (heksana, kloroform, etil asetat, butanol, dan air) dipekatkan secara terpisah di bawah tekanan tereduksi dalam rotary evaporator dan dikeringkan dalam oven pada suhu 45 ° C.

- **Kromatografi Lapis Tipis**

Skrining kualitatif senyawa aktif dilakukan pada pelat TLC silika gel 20 × 20 cm (Merck). Sampel (ekstrak etanol 95% dan fraksi butanol) dilarutkan menjadi 5 mg / mL dan standar (kriptoklorogenik asam, kaempferol-3-O-glukosida, dan quercetin 3-β-D-glukosida) dilarutkan menjadi 1 mg / mL. Pelat TLC dikembangkan dalam ruang TLC (10 × 10 cm); fase gerak adalah etil asetat: metanol: asam asetat: air

(110: 13,5: 8: 8 volume).

### **Pengembangan dan Validasi HPLC**

Ekstrak etanol 95% (v / v), fraksi butanolnya (1.000 ppm), dan larutan stok senyawa standar (2.000 ppm) disiapkan dalam metanol, disaring melalui saringan jarum suntik (ukuran pori 0,45  $\mu\text{m}$ ), dan dianalisis pada Bentuk pelat HPLC 1100/1200 (Agilent Technologies, USA) dilengkapi dengan termostat kolom, pompa kuaterner, detektor larik dioda, dan autosampler 1200 tangkas (SL 1).

Hasil Penelitian : Dari semua ekstrak dan fraksi, ekstrak etanol 95% (v / v) (pada 1.000 mg / kg) dan fraksi butanolnya (pada 500 mg / kg) adalah yang paling aktif, menurunkan konsentrasi glukosa darah setelah satu kali pemberian pada tikus diabetes ( $p < 0,01$ ). Tidak ada aktivitas

hipoglikemik yang signifikan, dan bahan tidak berpengaruh pada kinerja IPGTT oleh tikus normal. KLT dan HPLC mengidentifikasi quercetin 3- $\beta$ -D-glukosida, kaempferol-3-O glukosida, dan asam kriptoklorogenik. Ekstrak daun *M. oleifera* menunjukkan aktivitas anti-hiperglikemik hanya pada tikus diabetes. Efek ini kemungkinan besar disebabkan oleh asam kriptoklorogenik, quercetin 3- $\beta$ -D-glukosida, dan kaempferol 3-O-glukosida.

**Tabel 3.4. Efek Ekstrak *M. oleifera* Pada Tikus Normal (Irfan et al., 2017)**

Sampel / Ekstrak	Dosis/kg	Kadar glukosa darah setelah pengobatan (mmol/L)				
		0(FBG)	1	3	5	7
NC	10ml	5.1±0.46	4.98±0.60	5.01±0.68	5.06±0.44	5.13±0.58
G	10mg	4.96±0.33	3.81±0.94 <sup>a</sup>	3.75±0.77 <sup>b</sup>	3.45±0.19 <sup>c</sup>	4.1±0.43 <sup>a</sup>
E 95%	1000mg	4.95±0.48	5.38±0.61	5.67±0.44	5.22±0.44	5.11±0.65
E 75%	1000mg	5.15±0.48	5.52±0.52	5.62±0.53	5.28±0.55	4.75±0.74
E 50%	1000mg	5.15±0.50	5.33±0.36	5.43±0.43	5.15±0.2	5.01±0.51
E 25%	1000mg	4.88±0.44	5.4±0.76	5.83±0.66	4.95±0.82	5.07±0.48
AE	1000mg	5.13±0.54	5.97±0.30	5.83±0.32	5.4±0.52	5.06±0.83

**Tabel 3.5. Efek Ekstrak *M. oleifera* Pada IPGTT Pada Tikus Normoglikemik (Irfan et al., 2017)**

Kelompok	Dosis/ kg tubuh bobot	Kadar glukosa darah setelah pengobatan (mmol/L)						
		0 menit	15 menit	30 menit	45menit	60 menit	90 menit	120 menit
NC	10ml	5.22±0.19	7,33 ± 0,92	6,38 ± 0,50	5.38 ± 0.35	5.12 ± 0.20	4.97 ± 0.19	4.77 ± 0.29
G	10mg	5.47±0.31	4.58±1.13 <sub>c</sub>	3,75±0,66 <sub>c</sub>	3,57±0,70 <sub>c</sub>	3,3 ± 0,47 <sub>c</sub>	2,88 ± 0,34 <sub>c</sub>	2.68 ± 0.29 <sub>c</sub>
M	500mg	5.5±0.54	6,53 ± 0,53	5,7 ± 0,30	5.33 ± 0.33	5.17 ± 0.30	4,92 ± 0,40	4,67 ± 0,53
E 95%	1000mg	5.25±0.45	6,42 ± 0,60	5.77 ± 0.30	5,63 ± 0,36	5,48 ± 0,34	5,25 ± 0,38	5.1 ± 0.39
E 75%	1000mg	5.2±0.49	6,93 ± 0,90	6.18 ± 0.49	5.78 ± 0.64	5,45 ± 0,37	5.05 ± 0.24	4,87 ± 0,32
E 50%	1000mg	5.47±0.38	6.42 ± 0.86	5,82 ± 0,43	5.22 ± 0.34	5.08 ± 0.31	4,98 ± 0,31	4,88 ± 0,55
E 25%	1000mg	5.33±0.50	6,55 ± 1,08	6.07 ± 0.63	5.32 ± 0.31	5.38 ± 0.48	4.93 ± 0.12	4.73 ± 0.27
AE	1000mg	5.23±0.28	<u>6,47 ± 0,69</u>	<u>5,67 ± 0,27</u>	<u>5,42 ± 0,35</u>	<u>5,25 ± 0,34</u>	<u>4,93 ± 0,12</u>	<u>4,85 ± 0,29</u>

**Tabel 3.6. Efek Fraksi *M. oleifera* Pada Tikus Diabetes (Irfan et al., 2017)**

Kelompok	Dosis/ kg	Kadar glukosa darah setelah pengobatan (mmol/L)				
		0 jam	1 jam	3 jam	5 jam	7 jam
NCD	10ml	20.92 ± 2.55	21.02 ± 2.28	20.08 ± 1.73	19,10 ± 1,90	20.68 ± 2.98
PDC	500mg	18.40 ± 2.28	15.77±1.58 <sup>b</sup>	13.93 ± 1.96 <sup>c</sup>	12,85 ± 1,94 b	10.22±1.49 <sup>c</sup>
HF	500mg	20,92 ± 1,82	19,83 ± 1,62	21.15 ± 0.87	19,83 ± 1,19	19.98±1.59
CF	500mg	18.30 ± 2.55	21.15 ± 2.49	20,17 ± 1,65	19.22 ± 1.77	18.42±2.09
EAF	500mg	18,13 ± 0,67	19.58 ± 1.38	18,90 ± 1,50	19,65 ± 2,89	18.33±0.95
BF	500mg	20,52 ± 1,23	20.1 ± 2.31	17,67 ± 1,93	18.43 ± 3.48	16.00±1.27 <sup>b</sup>
AF	500mg	19,50 ± 3,81	20,85 ± 2,81	19,70 ± 2,78	18,37 ± 3,41	18.12±1.93

Kesimpulan : Ekstrak daun *M. oleifera* menunjukkan aktivitas anti-hiperglikemik hanya pada tikus diabetes. Efek ini kemungkinan besar disebabkan oleh asam kriptoklorogenik, quercetin 3- $\beta$ -D-glukosida, dan kaempferol 3-O-glukosida.

#### **5. Artikel kelima**

Judul Artkel : Effect of *Moringa oleifera* consumption on diabetic rats

Nama Jurnal : BMC Complementary and Alternative medicine

Penulis Artikel : Villarruel-López, A. López-de la Mora, D. A. Vázquez-Paulino, O. D. Puebla-Mora, A. G. Torres-Vitela, Ma R. Guerrero-Quiroz, L. A. Nuño, K.

Penerbit : BMC Complementary and Alternative Medicine

Volume dan Halaman : Volume 18 (1) Halaman 1-10

Tahun Terbit : 2018



Terakreditasi : Scopus dan Scimago

H-index : 80

### **ISI ARTIKEL**

Tujuan Penelitian : Untuk mengetahui efek anti-diabetes dari ekstrak dan fraksi *Moringa oleifera* yang dikonsumsi tikus diabetes.

Metode Penelitian :

- Desain : Studi Eksperimental Laboratorium, dengan dosis ekstrak *M. oleifera* sebanyak 50mg/hari. Parameter yang diujikan yaitu berat badan dan kadar glukosa darah.

- Populasi dan Sampel : Populasi dalam penelitian ini adalah Tanaman Kelor dan dan juga hewan uji berupa tikus.

1 Tanaman kelor yang digunakan adalah Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) yang diperoleh dari herbarium pribadi di Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México.

2 Hewan ujinya yaitu 30 ekor tikus Sprague Dawley jantan.

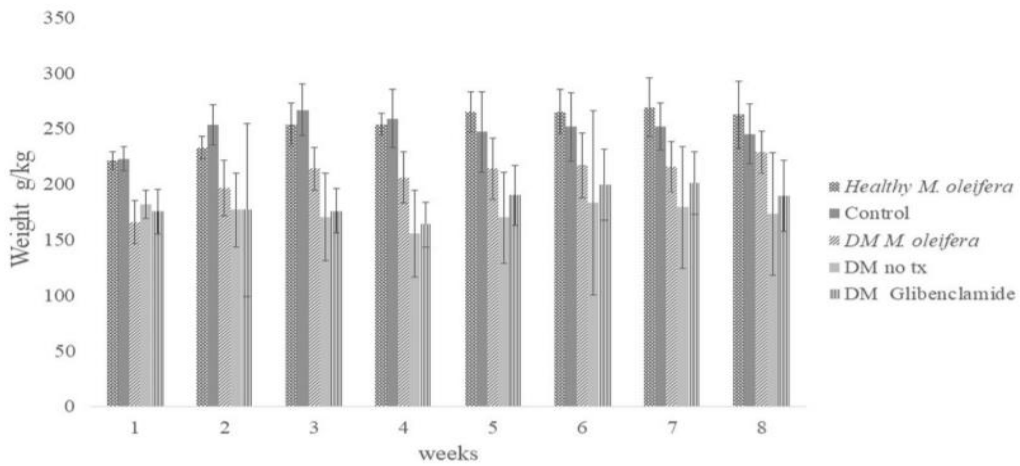
- Instrumental : Oven, mikroskop BX51 dengan epifluoresensi menggunakan obyektif perendaman 100X.
  
- Metode Analisi : Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut aqua. Dalam penelitian ini, 30 ekor tikus Sprague Dawley jantan sehat diletakkan dalam kandang khusus dan diberi air ad libitum dan siklus terang / gelap 12 jam dalam suhu ruangan yang dikontrol pada 25°C. Hewan dibagi menjadi 5 kelompok (n = 6), yang termasuk satu kelompok kontrol, satu kelompok sehat yang diobati *M. oleifera*, satu kelompok penderita diabetes yang tidak diobati, satu kelompok penderita diabetes yang diobati *M. oleifera*, dan satu kelompok diabetes yang diobati dengan glibenklamid (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA).

- **Dosis letal 50 (LD50) dan genotoksisitas**

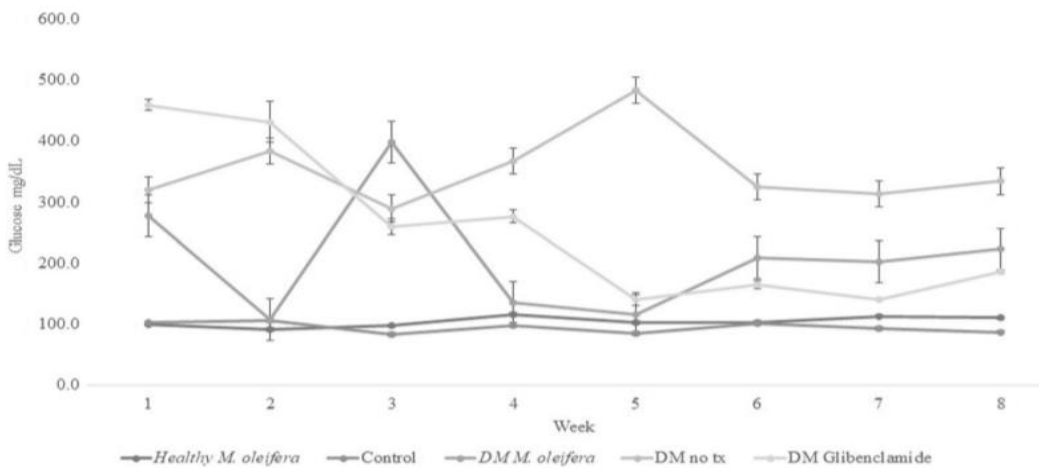
Dosis letal 50 (LD50) ditentukan pada tikus jantan Balb-C56 dengan pemberian dosis berbeda dari bubuk daun (mg/kg), dengan modifikasi pada jumlah hewan (n = 5) untuk mendapatkan nilai kritis dua ekor dengan penggunaan nomor hewan yang minimal. Hewan diobservasi untuk mengetahui tanda dan gejala toksisitas atau kematian dari 24 jam hingga 7 hari setelah pemberian *M. oleifera* untuk menentukan dosis letal. Untuk menyelidiki genotoksisitas, sampel darah hari ke-7 diambil dari ujung ekor masing-masing hewan, dan sampel darah tepi dilakukan pada sampel.

Hasil Penelitian : Dosis yang diuji menunjukkan tidak ada dosis yang letal dan tidak ada perbedaan yang signifikan pada parameter

genotoksisitas. Konsumsi daun menunjukkan efek hipoglikemik (<250 mg/dL pada diabetes *M. oleifera* kelompok perlakuan), namun berat badan menunjukkan peningkatan (>30 g selama tidak ada kelompok perlakuan *M. oleifera*). Tidak ada perubahan enumerasi bakteri asam laktat (8,4 CFU / g) namun terdapat perbedaan dominasi jenis enumerasi lactobacillus dan enterobacteria.. Hasil ini membantu meningkatkan informasi selama penggunaan yang paling populer *M. oleifera* dan keamanannya. Namun diperlukan lebih banyak penelitian tentang mekanisme hipoglikemik dan efek terhadap mikrobiota usus.



**Gambar 3.8** Kelompok Pengamatan Selama 8 Minggu Terhadap Berat Badan Tikus Yang Diberi Ekstrak *M. oleifera* (Mora & Torres-vitela, 2018)



**Gambar 3.9.** Nilai glukosa (mg / dL) dalam kelompok penelitian selama percobaan. Data dinyatakan sebagai mean  $\pm$  error standar per kelompok (Mora & Torres-vitela, 2018)

Kesimpulan :

Temuan menunjukkan bahwa konsumsi daun bubuk *M. oleifera* dapat bermanfaat pada model tikus diabetes mellitus atas nilai glukosa dan enumerasi enterobacterias. Namun

penelitian lebih lanjut akan diperlukan untuk mengevaluasi mekanisme aksi lipid dan mikrobiota usus pada diabetes mellitus untuk meningkatkan kemungkinan penggunaan *M. oleifera* dalam makanan fungsional sebagai nutraceutical.