

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SUNGKAI
(*Peronema canescens* Jack) TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHYDE (MDA) DAN INTERLEUKIN 10 (IL-10)
(Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi
Monosodium Glutamate (MSG))**

Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Magister (S2)**



Magister Ilmu Biomedik

Wahyudi

MBK.22.19.010300

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2023**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SINGKAI
(*Peronema canescens* Jack) TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHYDE (MDA) DAN INTERLEUKIN 10 (IL-10)
(Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi
Monosodium Glutamate (MSG))**

disusun oleh
Wahyudi
MBK.22.19.010300

yang dipertahankan di depan Tim Penguji
September 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui.

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes

Dr. dr. Hj. Chodidah, M.Kes

NIK. 220.198.045

NIK. 210.186.023

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med
NIK. 210.199.050

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan lembaga Pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka.



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Wahyudi
Tempat/tanggal lahir : Jambi, 26 Oktober 1991
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD N 1 Keliling Danau : Lulus tahun 2005
2. SMP 1 Keliling Danau : Lulus tahun 2007
3. SMA 1 Keliling Danau : Lulus tahun 2009
4. D3 AAK Provinsi Jambi : Lulus tahun 2012
5. S1 STABA Bandung : Lulus tahun 2017
6. S2 Biomedik FK UNISSULA : 2021 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Istri : Dina Afrianti
2. Anak : Rd Ibra Alfatir Wahyudi
Rts Arrumi Fadillah W

KATA PENGANTAR

Segala Puji atas ke hadirat Allah SWT atas Rahmat, Nikmat dan Taufiknya, sehingga penulis dapat melaporkan hasil tesis yang berjudul “ **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema Canescens Jack*) Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan *Interleukin 10* (IL-10) Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG)**”. Proposal ini diajukan sebagai bagian dari tugas akhir menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

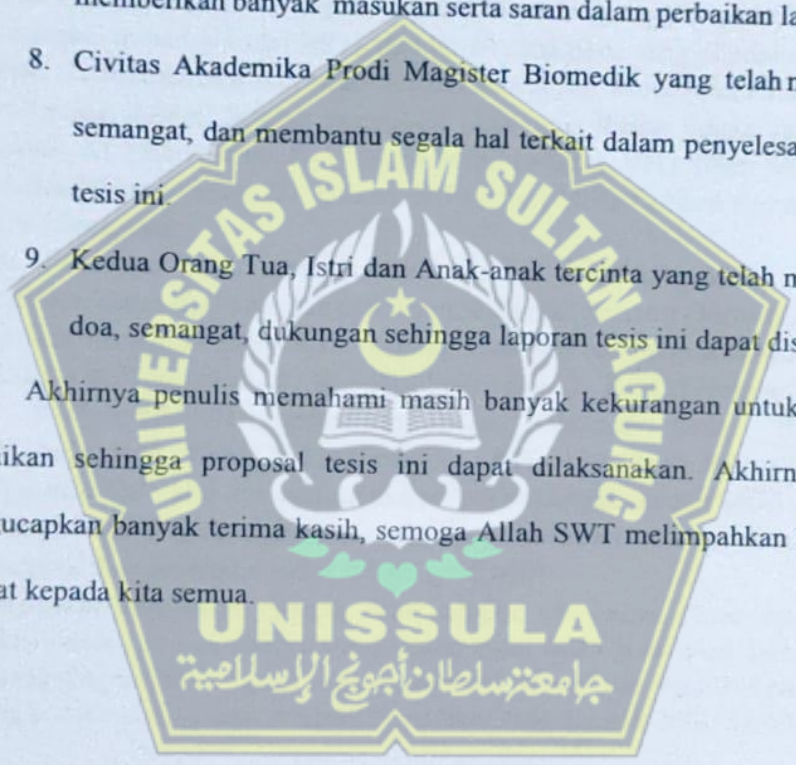
Dalam penyelesaian proposal tesis, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. H Setyo Trisnadi, S.H, Sp. F selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sekaligus sebagai penguji yang memberikan banyak masukan serta saran dalam perbaikan tesis.
3. Assoc. Prof. Dr. dr. H. Agung Putra, M.Si. Med Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan semangat motivasi dalam penyelesaian laporan tesis ini.
4. Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku Pembimbing I yang telah memberikan banyak perhatian, kritik, saran, serta dorongan semangat selama penyusunan laporan tesis.
5. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes selaku Pembimbing II yang telah

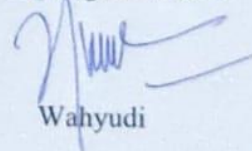
memberikan banyak perhatian, kritik, serta saran selama penyusunan laporan tesis.

6. Dr. Hj. Siti Thomas Z, S.KM, M.Kes selaku penguji yang memberikan banyak masukan serta saran dalam perbaikan laporan tesis.
7. Dr. dr. H. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji yang juga memberikan banyak masukan serta saran dalam perbaikan laporan tesis.
8. Civitas Akademika Prodi Magister Biomedik yang telah memberikan semangat, dan membantu segala hal terkait dalam penyelesaian laporan tesis ini.
9. Kedua Orang Tua, Istri dan Anak-anak tercinta yang telah memberikan doa, semangat, dukungan sehingga laporan tesis ini dapat disidangkan.

Akhirnya penulis memahami masih banyak kekurangan untuk dilakukan perbaikan sehingga proposal tesis ini dapat dilaksanakan. Akhirnya penulis mengucapkan banyak terima kasih, semoga Allah SWT melimpahkan berkah dan rahmat kepada kita semua.



Semarang, Agustus 2023


Wahyudi

MBK.22.19.010300

ABSTRAK

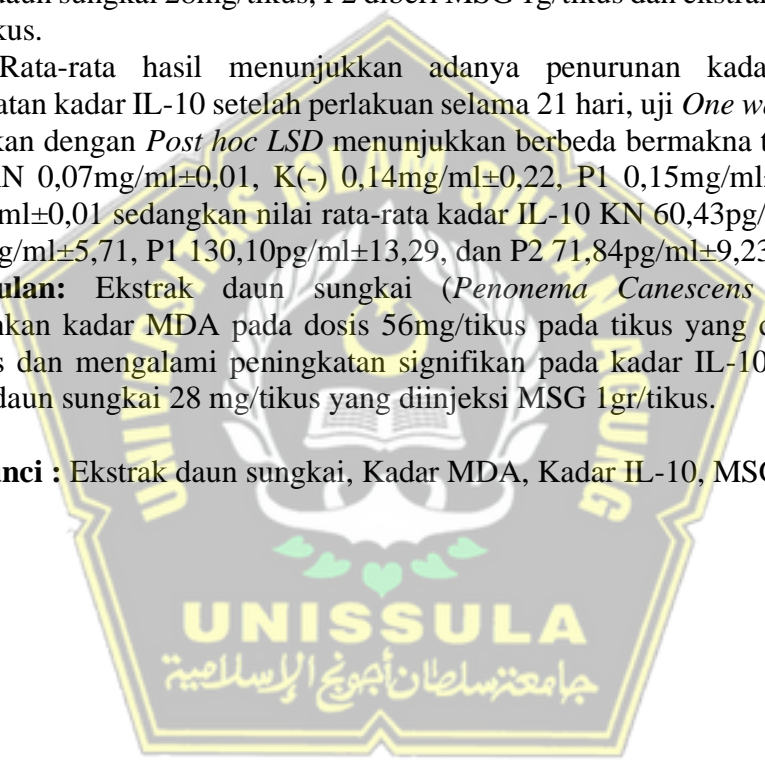
Latar Belakang: Penambahan *Monosodium Glutamat* (MSG) pada makanan siap saji dapat merubah kebiasaan makan, ditambah dengan kurangnya melakukan aktivitas sehingga berpengaruh bagi kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai terhadap kadar MDA dan IL-10 pada tikus yang diinduksi MSG.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *Randomized Post test only control group design*. Jumlah sampel 24 ekor tikus *Wistar* jantan yang dibagi 4 kelompok. KN tikus sehat, K(-) diberi MSG 1g/tikus, P1 diberi MSG 1g/tikus dan ekstrak daun sungkai 28mg/tikus, P2 diberi MSG 1g/tikus dan ekstrak daun sungkai 56mg/tikus.

Hasil: Rata-rata hasil menunjukkan adanya penurunan kadar MDA dan peningkatan kadar IL-10 setelah perlakuan selama 21 hari, uji *One way Anova* yang dilanjutkan dengan *Post hoc LSD* menunjukkan berbeda bermakna terhadap kadar MDA KN 0,07mg/ml±0,01, K(-) 0,14mg/ml±0,22, P1 0,15mg/ml±0,03, dan P2 0,07mg/ml±0,01 sedangkan nilai rata-rata kadar IL-10 KN 60,43pg/ml±17,40, K(-) 76,02pg/ml±5,71, P1 130,10pg/ml±13,29, dan P2 71,84pg/ml±9,23.

Kesimpulan: Ekstrak daun sungkai (*Penonema Canescens Jack*) ampu menurunkan kadar MDA pada dosis 56mg/tikus pada tikus yang diinjeksi MSG 1gr/tikus dan mengalami peningkatan signifikan pada kadar IL-10 dengan dosis ekstrak daun sungkai 28 mg/tikus yang diinjeksi MSG 1gr/tikus.

Kata kunci : Ekstrak daun sungkai, Kadar MDA, Kadar IL-10, MSG



ABSTRACT

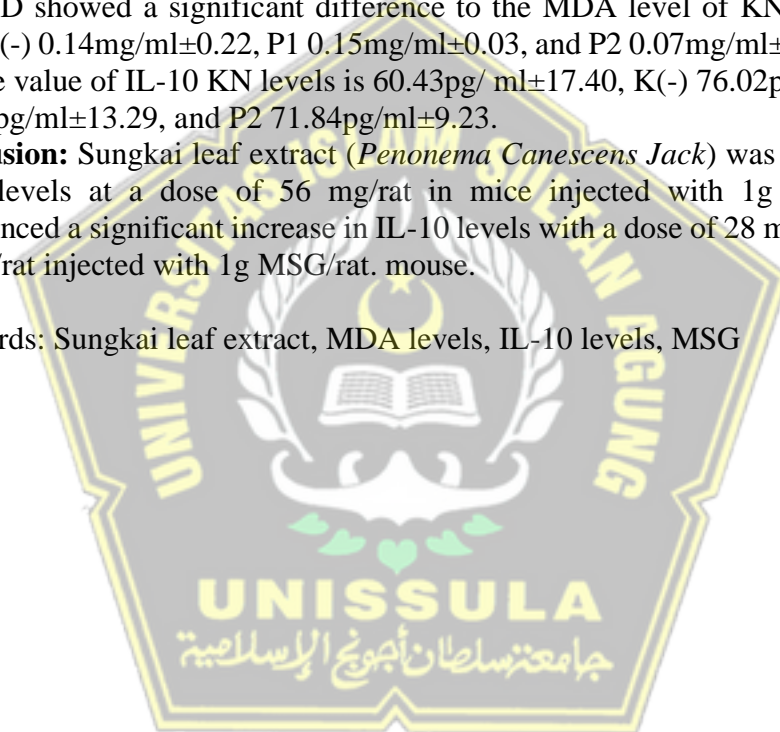
Background: The addition of *monosodium glutamate* (MSG) to ready-to-eat food can change eating habits, coupled with a lack of activity so that it affects health. This study aims to determine the effect of giving sungkai leaf extract on MDA and IL-10 levels in MSG-induced mice.

Method: Experimental research with a Randomized Post test only control group design. The total sample was 24 male Wistar rats divided into 4 groups. KN healthy mice, K(-) were given 1g MSG/rat, P1 was given 1g MSG/rat and 28mg sungkai leaf extract/rat, P2 was given 1g MSG/rat and 56mg sungkai leaf extract/rat.

Results: The average results showed a decrease in MDA levels and an increase in IL-10 levels after treatment for 21 days, the One way Anova test followed by Post hoc LSD showed a significant difference to the MDA level of KN $0.07\text{mg/ml} \pm 0.01$, K(-) $0.14\text{mg/ml} \pm 0.22$, P1 $0.15\text{mg/ml} \pm 0.03$, and P2 $0.07\text{mg/ml} \pm 0.01$ while the average value of IL-10 KN levels is $60.43\text{pg/ml} \pm 17.40$, K(-) $76.02\text{pg/ml} \pm 5.71$, P1 $130.10\text{pg/ml} \pm 13.29$, and P2 $71.84\text{pg/ml} \pm 9.23$.

Conclusion: Sungkai leaf extract (*Penonema Canescens Jack*) was able to reduce MDA levels at a dose of 56 mg/rat in mice injected with 1g MSG/rat and experienced a significant increase in IL-10 levels with a dose of 28 mg sungkai leaf extract/rat injected with 1g MSG/rat. mouse.

Keywords: Sungkai leaf extract, MDA levels, IL-10 levels, MSG




DAFTAR ISI

	Halaman
TESIS	i
PERNYATAAN.....	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah Penelitian	4
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Originalitas Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Malondialdehid (MDA).....	10
2.1.1 Definisi MDA.....	10
2.1.2 Respon seluler terhadap epitop MDA.....	11
2.1.3 Mekanisme transduksi sinyal dan reseptor epitop MDA.....	11
2.1.4 Epitop MDA pada peradangan	12
2.2 Interleukin 10 (IL-10).....	13
2.2.1 Definisi IL-10	13
2.2.2 Aktifitas IL-10	14
2.2.3 Jalur Transduksi Sinyal IL-10.....	15
2.3 Daun sungkai	16
2.3.1 Klasifikasi	16
2.3.2 Kandungan kimia daun sungkai.....	18
2.3.3 Efek antioksidan daun sungkai	19

2.4 Antioksidan.....	20
2.5 Monosodium glutamat (MSG)	21
2.5.1 Definisi Monosodium glutamat (MSG).....	21
2.5.2 Metabolisme Asam Glutamat	22
2.5.3 Toksisitas Asam Glutamat	24
2.6 <i>Reactive oxygen species</i> (ROS)	25
2.6.1 Metabolisme ROS.....	26
2.6.2 Efek kadar ROS yang tinggi.....	27
2.6.3 Hubungan ROS dengan Flavonoid	27
2.6.4 Hubungan ROS dengan Tanin	31
2.6.5 Hubungan ROS dengan Saponin	31
2.7 MSG penyebab terjadinya stress oksidatif	33
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
PENELITIAN	35
3.1 Kerangka Teori.....	35
3.2 Kerangka Konsep	38
3.3 Hipotesis Penelitian.....	38
BAB IV METODE PENELITIAN.....	39
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	39
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	40
4.2.1 Populasi.....	40
4.2.2 Sampel	41
4.2.3 Cara Pemilihan Sampel.....	41
4.3 Variabel Penelitian	42
4.4 Definisi Operasional	42
4.4.1 Variabel bebas.....	42
4.4.2 Variabel terikat	42
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	43
4.5.1 Peralatan penelitian.....	43
4.5.2 Pembuatan ekstrak daun sungkai.....	43
4.5.3 Pengambilan darah dan pengumpulan serum	45
4.6 Cara Penelitian.....	45
4.6.1 Prosedur pengukuran kadar MDA metode TBARS	46
4.6.2 Prosedur pengukuran kadar IL-10 metode ELISA	47

4.6.3 Alur Penelitian	49
4.7 Analisis Statistik	50
4.8 Jadwal Pelaksanaan Penelitian	50
4.8.1 Tempat Penelitian	50
4.8.2 Waktu Penelitian.....	50
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	51
5.1 Hasil Penelitian.....	51
5.1.1 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar MDA.....	51
5.1.2 Uji <i>one way anova</i> dan <i>post hoc LSD</i> kadar MDA.....	53
5.1.3 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar IL-10.....	54
5.1.2 Uji <i>one way anova</i> dan <i>post hoc LSD</i> kadar IL-10.....	55
5.2 Pembahasan	56
BAB VI KESIMPULAN	59
6.1 Kesimpulan.....	59
6.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN.....	64
Lampiran 1. Perhitungan dosis	64
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i>	65
Lampiran 3. Surat keterangan selesai penelitian	66
Lampiran 4. Hasil pengukuran kadar Flavonoid sampel ekstrak daun sungkai .67	
Lampiran 5. Hasil analisis kadar MDA.....	68
Lampiran 6. Hasil analisis kadar IL-10.....	69
Lampiran 7. Foto kegiatan penelitian.....	70
Lampiran 8. Hasil statistik pada SPSS	72

DAFTAR SINGKATAN



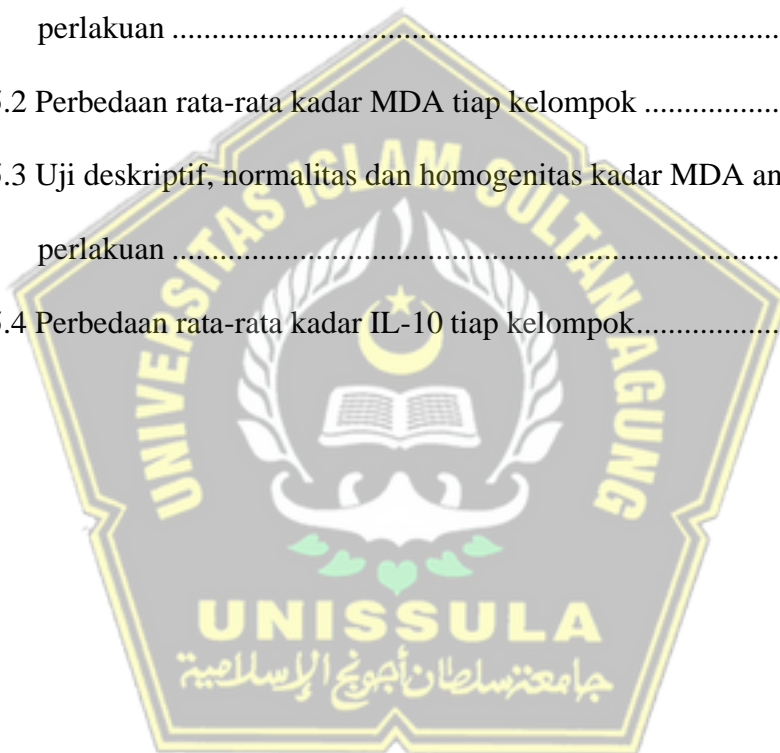
MSG	: <i>Monosodium glutamat</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
MDA	: <i>Malondialdehid</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
IC50	: <i>Inhibition concentration 50</i>
DPPH	: <i>2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
MV	: <i>Measles Virus</i>
DAMP	: <i>Damage associated molecular pattern</i>
PI3-kinase	: <i>Phosphatidyl inositol-3 kinase</i>
SRC kinase	: <i>Proto oncogene tyrosine protein kinase</i>
PL-C	: <i>Phospholipase C</i>
P3	: <i>Inositol 1,4,5 trifosfat</i>
ERK1/2	: <i>Ekspresi Extracellular Signal Regulated Kinase</i>
SYK	: <i>Tirosin protein kinase</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
ALT	: <i>Alanine aminotransferase</i>
AST	: <i>Aspartat aminotransferase</i>
ALP	: <i>Alkaline phosphatase</i>
FSH	: <i>Follicle-stimulating hormone</i>
LH	: <i>Luteinizing hormone</i>

SR-A1	: <i>Serotonin Reseptor A1</i>
CSIF	: <i>Cytokine synthesis inhibitory factor</i>
kDa	: <i>Kilodalton</i>
JAK	: <i>Janus kinase</i>
STAT	: <i>Signal transducer and activator of transcription</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
BPOM	: <i>Badan Pengawas Obat dan Makanan</i>
FAO	: <i>Food and Agriculture Organization</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated fatty acid</i>
NADPH	: <i>Nikotinamid Adenin Dinukleotida Fosfat</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 2.1 Hasil uji parameter spesifik.....	19
Tabel 2.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun sungkai.....	19
Tabel 5.1 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar MDA antar kelompok perlakuan	51
Tabel 5.2 Perbedaan rata-rata kadar MDA tiap kelompok	53
Tabel 5.3 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar MDA antar kelompok perlakuan	54
Tabel 5.4 Perbedaan rata-rata kadar IL-10 tiap kelompok.....	55

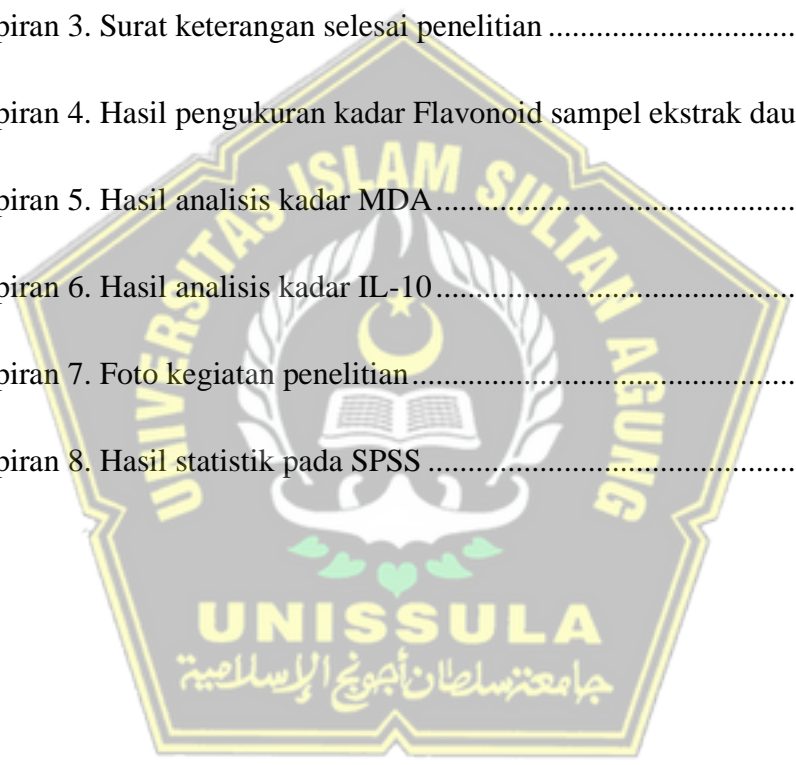


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Respon seluler terhadap epitop MDA.	12
Gambar 2.2 Interaksi stres oksidatif dan penyakit inflamasi terhadap MDA.	13
Gambar 2.3 Skema jalur pensinyalan IL-10.	16
Gambar 2.4 Pohon sungkai.	17
Gambar 2.5 Daun sungkai.	17
Gambar 2.6 Fungsi yang berkontribusi terhadap kapasitas antioksidan flavonoid.	30
Gambar 2.7 Model peran saponin alfalfa dalam sel stres oksidatif.	32
Gambar 3.1 Skema Kerangka Teori.	37
Gambar 3.3 Skema kerangka konsep Dosis Ekstrak Daun.	38
Gambar 3.2 Skema kerangka konsep.	38
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.	39
Gambar 4.3 Skema alur penelitian.	49
Gambar 5.1 Grafik nilai rata-rata kadar MDA tiap kelompok.	52
Gambar 5.2 Grafik nilai rata-rata kadar IL-10 tiap kelompok.	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan dosis	64
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i>	65
Lampiran 3. Surat keterangan selesai penelitian	66
Lampiran 4. Hasil pengukuran kadar Flavonoid sampel ekstrak daun sungkai .	67
Lampiran 5. Hasil analisis kadar MDA.....	68
Lampiran 6. Hasil analisis kadar IL-10	69
Lampiran 7. Foto kegiatan penelitian.....	70
Lampiran 8. Hasil statistik pada SPSS	72



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebiasaan dalam mengkonsumsi makanan siap saji serta juga kurangnya melakukan aktivitas fisik menyebabkan perubahan pola makan, mayoritas makanan tersebut memiliki efek berbahaya bagi kesehatan manusia. Umumnya produsen makanan menggunakan *Monosodium Glutamat* (MSG) untuk meningkatkan rasa pada makanan.¹ MSG ialah salah satu daripada bahan tambahan makanan yang sudah sangat umum dipergunakan yang bisa membuat munculnya ancaman untuk kesehatan.² MSG sebagai pemicu meningkatnya *reactive oxygen species* (ROS), mengubah homeostasis redoks dan menyebabkan kerusakan secara sistemik.¹ Menginduksi toksisitas reproduksi pria melalui mekanisme kerusakan oksidatif berupa peningkatan peroksidasi lipid dan penurunan aktivitas enzim antioksidan, disfungsi hormonal, dan penurunan kualitas sperma.³

Produk dari peroksidasi lipid yang dihasilkan ketika terjadi peningkatan stres oksidatif yaitu *Malondialdehid* (MDA), terhubung ke biomolekul *autologous* dan menciptakan epitop *neo-self* yang berpotensi menyebabkan reaksi biologis yang tidak diinginkan.⁴ Kadar MDA yang tinggi dipengaruhi oleh peroksidasi lipid, dengan cara yang tidak langsung menandakan tingginya jumlah radikal bebas serta menunjukkan bahwa membran sel mengalami oksidasi.^{4,5} Potensi kerusakan pada jaringan mengaktifasi *Interleukin 10* (IL-10) untuk mengurangi efek peradangan maupun kondisi infeksi.⁶ IL-10 merupakan sitokin antiinflamasi yang kuat, sangat penting untuk menjaga homeostasis sistem kekebalan dan mencegah gangguan inflamasi kronis.⁷ Menggunakan ekstrak daun sungkai yang diketahui dapat

menurunkan radikal bebas didalam tubuh, namun kaitannya dengan kadar MDA dan IL-10 masih perlu diteliti lebih lanjut.⁸

MSG ditambahkan dalam banyak makanan olahan dengan perkiraan rata-rata asupan harian manusia sekitar 0,3-1,0g di berbagai macam negara industri Eropa.⁹ Asupan rata-rata MSG di Inggris ialah 0,58 g/hari, 10,0 g di Jerman. Di Nigeria, asupan rata-rata 0,56–1,00 g/hari, sedangkan di Asia lebih tinggi dengan asupan 1,1–1,6 g/hari di Jepang, di Taiwan 1,5–3,0 g/hari dan 1,6–2,3 g/hari dilaporkan di Korea Selatan. Meskipun *Food and Drug Administration* (FDA) mengemukakan bahwasanya MSG ialah zat yang aman, beberapa penelitian pada hewan menunjukkan efek negatif setelah konsumsi MSG secara kronis.¹⁰ Sedangkan laporan penggunaan MSG di Indonesia pada tahun 2013 Riskesdas 2013 melaporkan konsumsi MSG sebesar 77,3%. Asupan lainnya yang dianggap berbahaya, seperti makanan manis (53,1%), makanan berlemak (40,7%), dan kopi (29,3%).¹¹

Beberapa penelitian tentang daun sungkai memiliki efek imunodulator yang bekerja dengan meningkatkan jumlah leukosit pada mencit.¹² Pemberian dosis 500 mg/KgBB dapat membuat kadar asam urat mencit menurun yang mengalaminya hiperurisemia. Ekstrak etanol dari daun sungkai dengan aktivitas antioksidan, dengan nilai IC₅₀ sebesar 50,838 ppm ekstrak etanol pada daun muda dan dengan jumlah sebanyak 52,835 ekstrak etanol yang ada pada daun tua.¹³ Hasil uji fitokimia diketahui daun sungkai memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, serta steroid, serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sungkai dengan nilai IC₅₀ sebanyak 8,377 ppm dengan metode DPPH menunjukkan

aktivitas antioksidan yang sangatlah begitu kuat.¹² Studi pra-klinis mengungkapkan bahwa konsumsi MSG berulang juga dapat memicu asma, obesitas akibat kanker, diabetes, dan stres oksidatif. Toksisitas seperti hepatotoksisitas, genotoksisitas, toksisitas reproduksi, dan toksisitas ginjal, serta efek neurotoksik juga telah dilaporkan menyertai asupan MSG. Konsumsi MSG juga dikaitkan dengan penyakit Parkinson, penyakit Alzheimer, kecanduan, trauma otak, kecemasan, stroke, depresi, dan epilepsi.¹³

MDA sebagai mediator peradangan (epitope MDA) dapat ditemukan sebagai biomarker untuk stres oksidatif pada berbagai penyakit inflamasi, karena produksi peroksidasi lipid yang berlebihan atau tidak memadai dalam situasi stres oksidatif, epitop MDA juga telah ditemukan memiliki sejumlah dampak signifikan pada tipe sel yang berbeda, termasuk respons pro-inflamasi, aktif secara biologis sebagai mediator stres oksidatif dan peradangan.⁴ Epitop MDA sebagai indikator jaringan yang rusak atau biomolekul teroksidasi dan paparannya terhadap struktur *autologus* untuk memperingatkan sistem kekebalan akan bahaya karena akumulasi non-fisiologis dapat memicu aktivasi respons proinflamasi.⁴ Selain itu, IL-10 meningkatkan sintesis antibodi dan proliferasi sel B dan dapat meningkatkan pelepasan reseptor TNF dan menurunkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS), yang dapat menetralkan efek TNF- α .¹⁴ Dampak konsumsi MSG berlebih dapat dikurangi dengan memodifikasi pola makan mengandung sumber antioksidan yang tinggi. Penggunaan bahan alami menjadi relevan sebagai pilihan untuk mengurangi racun yang terbawa makanan dan menjadi alternatif yang menjanjikan.¹ Kandungan radikal bebas yang tinggi bisa diredam dengan menggunakannya senyawa

antioksidan. Antioksidan ialah senyawa yang mempunyai kemampuan teruntuk melepas hidrogen guna menurunkan kadar radikal bebas.³ Berdasarkan mekanisme antioksidan tersebut, ekstrak daun sungkai dapat menjadi alternatif sebagai antioksidan alami.

Antioksidan ekstrak daun sungkai diharapkan dapat menetralkan ROS sehingga memperbaiki kerusakan sel dan menyeimbangkan sekresi hormon. Penelitian ini menjadi penting dilakukannya teruntuk mengetahui pengaruh dari pemberian ekstrak daun sungkai pada kadar Malondialdehid (MDA) serta kadar interleukin 10 (IL-10) pada tikus yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG).

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Adakah pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai (*Penronema Canescens Jack*) terhadap kadar *Malondialdehid* (MDA) dan *Interleukin 10* (IL-10) pada tikus *Wistar* yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG)?

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai (*Penonema Canescens Jack*) pada kadar *Malondialdehid* (MDA) serta *Interleukin 10* (IL-10) yang ada pada tikus *Wistar* yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG).

1.2.2 Tujuan Khusus

- a. Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens Jack*) dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) pada penurunan kadar *Malondialdehid*

(MDA) pada tikus *Wistar* yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG) antar kelompok perlakuan dibanding dengan kontrol.

- b. Pemberian ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens Jack*) dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) terhadap peningkatan kadar *interleukin 10* (IL-10) yang ada pada tikus *Wistar* yang diinduksikan oleh *Monosodium Glutamate* (MSG) antar kelompok perlakuan dibanding dengan kontrol.

1.3 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
Pratiwi U, Muharni M, Ferlinahaya ti F, Yohandini H, Suheryanto S. ¹⁵	<i>Quantitative Phytochemical Analysis and Determination of Anti-Cholesterol Activity of Sungkai (Paronema canescens Jack.)</i>	Uji Eksperimental <i>In Vitro</i>	Ekstrak etanol memiliki aktivitas antikolesterol lebih tinggi dari pada ekstrak metanol dengan nilai IC50 masing-masing 272,14 dan 374,26 µg/mL, sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas anti kolesterol tertinggi di antara fraksi lain dengan nilai IC50 sebesar 156,43 g/mL. Temuan ini menunjukkan bahwasanya fraksi etil asetat ekstrak daun sungkai mempunyai potensi yang sangat baik untuk dijadikannya sebagai obat penurun kolesterol.
Rahman A, Rengganis GP, Prayuni S, et al. ¹²	Pengaruh pemberian infusa daun sungkai terhadap jumlah leukosit pada mencit	Uji Eksperimental <i>In Vivo</i>	Ekstrak etanol daun sungkai dengan aktivitas antioksidan, dengan nilai IC50 yang berjumlah 50,838ppm ekstrak etanol yang ada pada daun muda serta bernilai sebanyak 52,835 ekstrak etanol yang ada pada daun tua.

Fadlilaturrahmah, F, Khairunnisa, A., Putra, A. M., & Sinta, I. ¹⁶	Uji aktivitas tabir surya dan antioksidan ekstrak etanol daun sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack).	Uji Eksperimental <i>In Vivo</i>	Ekstrak sungkai memiliki kandungan akan flavonoid, antrakuinon, tanin, saponin, serta juga fenol. Mempunyai IC50 dengan jumlah sebanyak 42,219±19,440 ppm serta mempunyai aktivitas tabir surya yang nilai spfnya (<i>Sun Protecting Factor</i>) mencapai sampai dengan konsentrasi 600 ppm, 400 ppm, 200 masing-masing seperti berikut: 24±0.31, 16±0.34, dan 8±0.3.
Yani AP, Pratama AY. ⁸	<i>Side effect of the sungkai leaf (Peronema Canescens Jack) in lembak tribes tradisional medicine of mice (Mus Musculus).</i>	Uji Eksperimental <i>In Vivo</i>	Pemberian dari ekstrak daun sungkai dengan dosis sebanyak 0,75 mg/gbb terhadap induk Mus musculus yang ada pada periode organogenesis tidaklah memberi suatu efek maupun pengaruh yang cukup signifikan pada pertumbuhan maupun pada perkembangan eksternal fetus Mus musculus. Maka daripada itu bisa diambil kesimpulan bahwasanya penggunaan dari ekstrak daun sungkai sampai dengan dosis 0,75 mg/gbb dinyatakan aman.
Dillasamola D, Aldi Y, Wahyuni FS, et al. ¹⁷	<i>Study of Sungkai (Peronema canescens, Jack) leaf extract activity as an immunostimulators with in vivo and in vitro methods.</i>	Uji Eksperimental <i>In Vivo</i> dan <i>In Vitro</i> .	Dengan meningkatkan aktivitas dan kemampuan fagositik sel makrofag, jumlah leukosit, dan proporsi sel limfosit, ekstrak dengan dosis 800, 400, dan 200 mg/kgBB merangsang sistem kekebalan tubuh. sel neutrofil segmental diturunkan regulasinya, dan sitokinnya ditingkatkan regulasinya. TNF- dan IL-6 aman dan tidak beracun bagi sel RAW 264.7 dan bersifat proinflamasi. Aktivitas imunostimulan ekstrak sungkai dosis 200 mg/kg BB setara dengan stimuno dosis 50 mg/kg BB.

Penelitian sebelumnya melaporkan hasil ekstrak etanol dan metanol daun sungkai memiliki kandungan total flavonoid $8,23 \pm 1,41$ dan $2,671 \pm 2,64$ mg Quercetin Equivalent (QE)/g, kandungan fenolik total $13,00 \pm 1,48$ dan $4,47 \pm 1,41$ mg Gallic Acid Equivalent (GAE)/g, dan kandungan steroid masing-masing $108,29 \pm 0,03$ dan $82,23 \pm 0,39$ mg Kolesterol Ekuivalen (CE)/g. Ekstrak etanol memiliki kandungan flavonoid dan steroid yang lebih tinggi dari pada ekstrak metanol, namun kandungan total fenoliknya lebih rendah, meskipun perbedaannya tidak signifikan. Ekstrak etanol mempunyai aktivitas antikolesterol yang jauh lebih tinggi dibanding dengan ekstrak metanol dengan nilai IC₅₀ masing-masing 272,14 dan 374,26 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas anti kolesterol tertinggi di antara fraksi lain dengan nilai IC₅₀ sebesar 156,43 g/mL.¹⁵ Berbeda dengan penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sungkai dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) pada kadar MDA serta IL-10 pada tikus *Wistar* jantan yang diinduksikannya oleh MSG.

Penelitian terdahulu melaporkan hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder yang ada pada serbuk simplisia memperlihatkan yakni adanya kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, serta juga steroid. Uji antioksidan yang dibuatnya dengan variasi konsentrasi 10, 30, 50, serta 70 ppm memperlihatkan hasil yakni ekstrak etanol 96% daun sungkai mempunyai aktivitas antioksidan yang sangatlah begitu kuat yang bernilai IC₅₀ dengan jumlah sebanyak 8,377 ppm.¹² Berbeda dengan penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sungkai dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) pada kadar MDA serta juga IL-10 yang ada pada tikus *Wistar* jantan yang diinduksi MSG. Penelitian terdahulu

menentukannya aktivitas antioksidan serta aktivitas tabir surya dari daun Sungkai dengan cara menggunakan metodologi DPPH yang mempergunakan spektrofotometer uv-vis serta teruntuk penentuan aktivitas tabir surya mempergunakannya spektrofotometer uv-vis, maka didapat hasil yakni memiliki kandungan akan flavonoid, antrakuinon, tanin, saponin, serta juga fenol. Tanaman *P.canescens* mempunyai nilai IC50 dengan jumlah sebanyak 42,219±19,440 ppm serta nilai SPF dengan konsentrasi 600 ppm, 400 ppm, 200 yang tiap-tiapnya dijadikan seperti berikut: 24±0.31 ; 16±0.34; dan 8±0.3.¹⁶ Berbeda dengan riset ini menggunakan ekstrak etanol daun sungkai dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) pada kadar MDA serta IL-10 yang ada pada tikus *Wistar* jantan yang diinduksikannya oleh MSG.

Penelitian terdahulu melaporkan pemberian ekstrak daun Sungkai sampai dengan 0,75 mg/gbb yang ada pada induk *Mus musculus* periode organogenesis tidaklah memberi efek maupun pengaruh yang cukup signifikan dengan cara statistik pada pertumbuhan maupun pada perkembangan eksternal dari *fetus Mus musculus*. Riset ini mengambil kesimpulan yakni penggunaan dari ekstrak daun sungkai sampai dengan dosis 0,75 mg/gbb dinyatakan sebagai aman.⁸ Berbeda dengan penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sungkai dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) pada kadar MDA serta IL-10 yang ada pada tikus *Wistar* jantan yang diinduksikan oleh MSG. Penelitian terdahulu menunjukkan hasil ekstrak etanol dan metanol daun sungkai memiliki kandungan total flavonoid 8,23±1,41 dan 2,671±2,64 mg, kandungan fenolik total 13,00±1,48 dan 4,47±1,41 mg, dan kandungan steroid masing-masing 108,29±0,03 dan

82,23±0,39 mg, Ekstrak etanol mempunyai kandungan flavonoid dan steroid yang jauh lebih tinggi dari pada ekstrak metanol, namun kandungan total fenoliknya lebih rendah, meskipun perbedaannya tidak signifikan. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antikolesterol lebih tinggi daripada ekstrak metanol dengan nilai IC50 masing-masing 272,14 dan 374,26 µg/mL, sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas anti kolesterol tertinggi di antara fraksi lain dengan nilai IC50 sebesar 156,43 g/mL.¹⁷ Berbeda dengan penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sungkai dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) pada kadar MDA serta IL-10 yang ada pada tikus *Wistar* jantan yang diinduksikan oleh MSG.

1.4 Manfaat Penelitian

a. Manfaat Teoritis

Hasil dari penelitian ini diharap untuk bisa diperoleh informasi secara ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai pada kadar *Malondialdehyde* (MDA) serta *Interleukin 10* (IL-10) yang ada pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksikan oleh *Monosodium Glutamate* (MSG).

b. Manfaat Praktis

Sebagai informasi pada masyarakat tentang ekstrak daun sungkai sebagai imunostimulan yang baik, memiliki banyak potensi yang belum diungkap dan masih terus akan dilakukan penelitian secara mendalam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malondialdehid (MDA)

2.1.1 Definisi MDA

MDA ialah produk akhir dari peroksidasi lipid yang dihasilkan ketika terjadi peningkatan stres oksidatif, dapat terhubung ke biomolekul *autologous* dan menciptakan epitope *neo-self* yang berpotensi menyebabkan reaksi biologis yang tidak diinginkan.⁴ MDA juga merupakan produk hasil radikal bebas yang dilepaskan melalui reaksi ionisasi dan produk sampingan dari biosintesis dalam tubuh Prostaglandin dan produk akhir dari oksidasi lipid membran. Kadar MDA yang tinggi juga menunjukkan kerentanan terhadap reaksi oksidasi terutama membrane sel yang rusak dan menimbulkan penyakit degenerasi, kanker, penuaan dan lain-lain.¹⁸

MDA telah menjadi fokus perhatian dalam peroksidasi lipid, kadar MDA yang tinggi dipengaruhi oleh adanya peroksidasi lipid, dengan cara yang tidaklah langsung menandakan bahwa tingginya tingkat peroksidasi lipid, jumlah radikal bebas serta menunjukkan bahwa membran sel sedang mengalami oksidasi.⁵ Kadar MDA yang rendah biasanya diikuti oleh status antioksidan yang tinggi. Status antioksidan yang tinggi juga dapat secara kovalen melekat pada berbagai macam molekul biologis, termasuknya asam nukleat, protein, serta juga aminofosfolipid. Polimer dengan berbagai berat molekul dan polaritas dapat dibuat melalui MDA. Antioksidan dapat mengurangi efek berbahaya dari molekul radikal dan metabolit elektrolit,

berupa antioksidan seperti halnya vitamin C serta A serta albumin atau antioksidan makanan seperti gingerol maupun flavonoid.¹⁹

2.1.2 Respon seluler terhadap epitop MDA

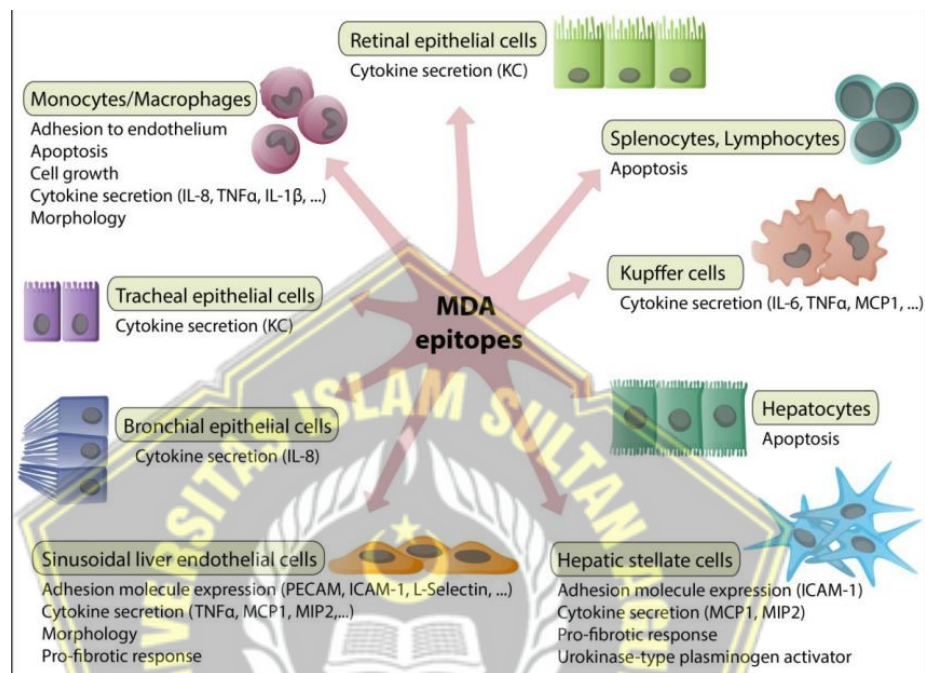
MDA sebagai mediator peradangan (epitope MDA) dapat ditemukan sebagai biomarker untuk stres oksidatif pada berbagai penyakit inflamasi, karena produksi peroksidasi lipid yang berlebihan atau tidak memadai dalam situasi stres oksidatif, epitop MDA juga telah ditemukan memiliki sejumlah dampak signifikan pada tipe sel yang berbeda, termasuk respons pro-inflamasi, aktif secara biologis sebagai mediator stres oksidatif dan peradangan. Homeostasis yang terganggu menyebabkan akumulasi epitop MDA yang abnormal ditangani oleh respons imun bawaan dan adaptif.⁴

Epitop MDA termasuk dalam kategori DAMP, dihasilkan dari kerusakan dan stres jaringan, memiliki kualitas inflamasi dan dideteksi oleh sel imun dan non-imun dan merupakan target dari banyak imunitas bawaan.⁴ Epitop MDA sebagai indikator jaringan yang rusak atau biomolekul teroksidasi dan paparannya terhadap struktur *autologus* untuk memperingatkan sistem kekebalan akan bahaya karena akumulasi non-fisiologis dapat memicu aktivasi respons proinflamasi.⁴

2.1.3 Mekanisme transduksi sinyal dan reseptor epitop MDA

Efek yang ditimbulkan oleh berbagai Epitop MDA dimediasi oleh protein kinase C, Epitop MDA menginduksi reaksi seluler untuk memproduksi sitokin pro-inflamasi, aktivasi reseptor pada membran sel oleh epitop MDA serta komponen pensinyalan yang mampu memediasi sinyal ke nukleus.²⁰ Aktivasi

jalur yang terlibat seperti PI3-kinase, Src kinase, PL-C/IP3, Erk1/2, Syk dan NF- κ B, Reaksi ekstraseluler juga menunjukkan SR-A1 sebagai reseptor pengikat epitop MDA ke permukaan sel monosit manusia.²¹



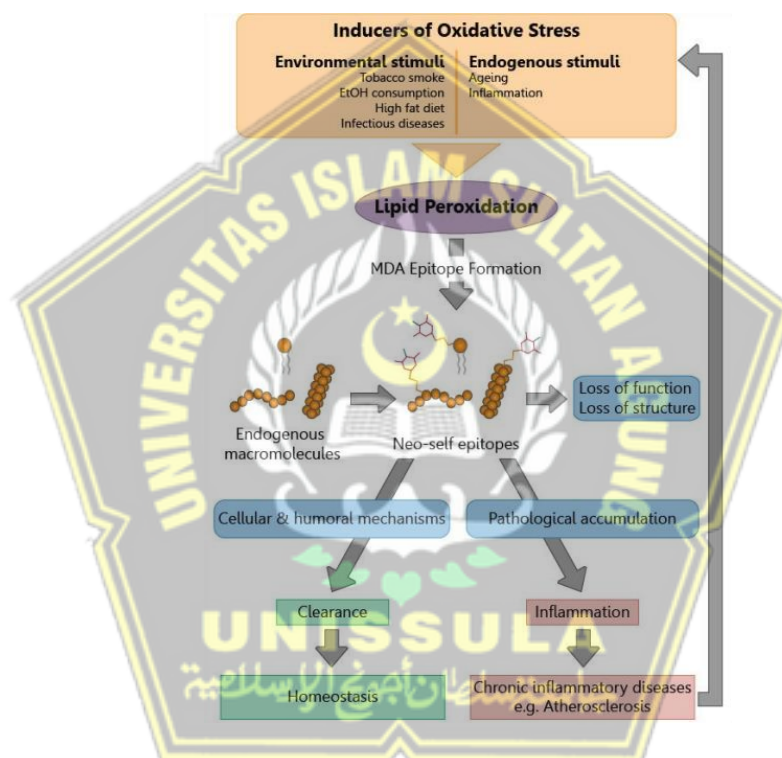
Gambar 2.1 Respon seluler terhadap epitop MDA.⁴

Efek epitop MDA pada berbagai jenis sel dengan sekresi sitokin yang paling umum. Respon seluler sebagian besar telah diselidiki di paru-paru, hati, dan jaringan peredaran darah, tiga model atau jaringan di mana MDA diproduksi sebagai akibat dari stres oksidatif yang disebabkan oleh berbagai stresor eksternal.⁴

2.1.4 Epitop MDA pada peradangan

MDA diproduksi selama stres oksidatif dan dengan demikian dapat ditemukan dalam homogenat plasma dan jaringan individu dengan berbagai penyakit. Peroksidasi lipid dapat disebabkan oleh berbagai pemicu endogen dan lingkungan yang menyebabkan stres oksidatif. MDA sebagai salah satu

produk akhirnya mengubah protein dan lipid endogen dengan mudah untuk memunculkan epitop *neo-self* dengan peran biologis baru. Epitop MDA dapat dihilangkan dengan mekanisme pembersihan seluler dan humoral yang juga membantu mempertahankan homeostasis. Penumpukan epitop MDA yang abnormal menyebabkan *loop* penguatan otomatis yang menyebabkan gangguan inflamasi kronis.⁴



Gambar 2.2 Interaksi stres oksidatif dan penyakit inflamasi terhadap MDA.⁴

2.2 Interleukin 10 (IL-10)

2.2.1 Definisi IL-10

IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi yang kuat, berperan penting untuk mengatur respons imun dan mencegah gangguan inflamasi kronis.¹⁴ IL-10 ialah sitokin tipe II yang sama dengan IL-19, IL-20, IL-22, IL-26, dan IL-29. Semua sitokin ini memiliki struktur gen yang terorganisir dan berikatan dengan

reseptor penyusun yang sama, meskipun dengan bermacam aktivitas biologis.²²

IL-10 sebagai faktor penghambat sintesis sitokin manusia (CSIF), terdiri atas polipeptida homodimerik 17 kDa yang dikodekan oleh gen IL-10, ditemukan pada kromosom 1 dan terdiri dari 5 ekson.²² Gen IL-10 manusia sepanjang 4,7 kb dapat ditemukan di lengan panjang kromosom 1, memiliki lima ekson, homodimer 36 kD dari IL-10 yang aktif secara biologis terdiri dari dua monomer yang tidak terikat secara kovalen dengan panjang masing-masing 160 asam amino.²³ Monomer dihubungkan oleh dua jembatan disulfida, yang diperlukan untuk aktivitas biologis monomer dan mempertahankan integritas strukturalnya. Dua subunit IL-10R-alpha dan dua IL-10R-beta dari kompleks reseptor IL-10 tetramerik berikatan dengan homodimer IL-10. Diketahui bahwa subunit pensinyalan, IL-10R-beta, berikatan dengan ligan.²³ Ketika IL-10 homodimer berikatan dengan IL-10R-alpha, merangsang kaskade JAK/STAT dan Akt (juga dikenal sebagai protein kinase B, PKB), yang merupakan jalur pensinyalan transkripsional.²⁴

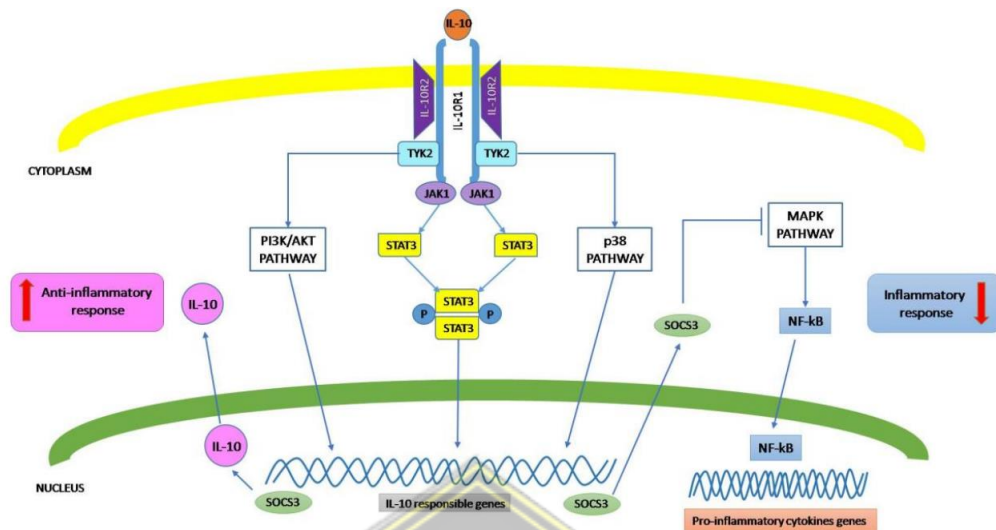
2.2.2 Aktifitas IL-10

Sel leukosit sebagian besar mengsekresikan IL-10, termasuk sel T, monosit, makrofag, neutrofil, eosinofil, sel mast, sel dendritik (DC), sel B dan NK sel. Selain itu keratinosit dan sel epitel menghasilkan IL-10 sebagai respons terhadap infeksi, cedera jaringan, dan adanya sel tumor. Sel myeloid yang dipicu *Toll-Like Receptor* (TLR) dapat mengeluarkan sitokin inflamasi termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IFN- γ , yang semuanya dihambat oleh IL-10. Selain meredam sitokin Th1, IL-10 adalah penghambat kuat presentasi antigen

karena dapat menurunkan ekspresi molekul *co-stimulator* CD80 pada makrofag dan CD86 pada permukaan sel dendritik, serta kompleks histokompatibilitas utama kelas II (MHC II), IL-10 juga mendorong ekspansi sel B dan produksi antibody.²⁵ Dapat menghambat pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) selain meningkatkan pelepasan reseptor TNF yang dapat memusuhi efek TNF- α .²⁶

2.2.3 Jalur Transduksi Sinyal IL-10

Ketika IL-10 dihasilkan dan disekresikan, secara selektif mengikat dan mengaktifkan kompleks reseptor fungsional IL-10, yang terdiri dari anggota keluarga reseptor interferon (IFNR α) IL-10R1 (IL-10R1 β) dan IL-10R2 (IL-10R2).¹⁴ IL-10R α adalah reseptor permukaan sel yang hanya memiliki satu domain transmembran. Ini memiliki afinitas tinggi untuk IL-10 (Kd ~35–200 pM). Sebagian besar sel hemopoietik mengekspresikan oleh rantai IL-10R α , yang juga sangat diekspresikan pada makrofag dan DC, sel non-hemopoietik juga menghasilkan IL-10R1, dengan cara yang dapat diinduksi secara konstitutif. Ekspresi IL-10R1 ditemukan pada fibroblas yang diproduksi oleh LPS, serta pada sel epidermis atau keratinosit setelah paparan glukokortikoid atau dihidroksi vitamin D3.²⁷



Gambar 2.3 Skema jalur pensinyalan IL-10.²⁸

2.3 Daun sungkai

2.3.1 Klasifikasi

Tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack) yang termasuknya ke dalam tanaman dari famili *Verbenaceae*, Sungkai juga dikenal sebagai jati sabrang, kurus, ki sabrang, sekai, maupun sungkai. Tersebar di beberapa wilayah seperti Jambi, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, Bengkulu, Jawa Barat, serta keseluruhan dari Pulau Kalimantan. Sungkai dapat berkembang sampai dengan 600 meter di atas permukaan laut di hutan tropis dengan curah hujan kategori A hingga C, serta di tanah kering maupun yang agak lembab.²⁹

Spesies tanaman kayu ini tumbuh hingga ketinggian 20 hingga 30 meter, dengan diameter batang yang mencapai rata-rata 60 cm. Batang dan cabang dapat tumbuh setinggi 15 meter. Batangnya lurus memiliki lekukan kecil, warna kulit keabuan serta beralur dangkal, kayu teras mempunyai warna kuning muda ataupun krem, batang kayu keras hampir menyerupai jati serta memiliki alur.²⁹



Gambar 2.4 Pohon sungkai.⁴⁸

Klasifikasi ilmiah dari tanaman sungkai sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Lamiales*

Famili : *Verbenaceae*

Genus : *Peronema*

Spesies : *Peronema canescens* Jack.²⁹



Gambar 2.5 Daun sungkai.²⁹

2.3.2 Kandungan kimia daun sungkai

Daun muda sungkai dimanfaatkan oleh sebagian besar suku Dayak di Kalimantan Timur sebagai obat kumur, terapi cacangan, penurun demam, dan obat masuk angin. Di Sumatra Selatan serta Lampung, tanaman sungkai pada umumnya dipergunakan untuk dijadikannya sebagai anti malaria maupun antiplasmodium. Ekstrak etanol daun sungkai mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, fenolat, saponin, serta steroid pada analisis fitokimia. Senyawa flavonoid diklaim dapat menghambat aktivitas dari enzim XO serta menurunkannya kadar asam urat dalam darah atau berfungsi sebagai antihiperurisemia.¹³ Penelitian lain melaporkan ekstrak etanol daun sungkai memiliki kadar antikolesterol lebih tinggi dari ekstrak metanol dengan nilai IC₅₀ 272,14 dan 374,26 µg/mL, sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan kadar anti kolesterol tertinggi di antara fraksi lain dengan nilai IC₅₀ sebesar 156,43 g/mL, sehingga sangat berpotensi sebagai obat penurun kolesterol.¹⁵ Hasil dari uji fitokimia yang ada pada ekstrak etanol daun *P. canescens* positif memiliki kandungan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik, tannin, serta juga saponin.³⁰

Tabel 2.1 Hasil uji parameter spesifik.³⁰

Parameter ekstrak	Hasil
Identitas ekstrak	
Nama ekstrak	<i>Penronema Canescens Jack Extraktum</i>
Nama latin tumbuhan	<i>Penronema Canescens Jack</i>
Bagian tumbuhan yang digunakan	Daun
Nama Indonesia tanaman	Sungkai
Nama lokal	Jati sebrang, Longkai
Organoleptis ekstrak	
Bentuk	Kental
Warna	Hijau
Bau	Aromatik
Rasa	Kelat, pahit

Tabel 2.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun sungkai.³⁰

Jenis senyawa	Hasil
Alkoid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
steroid	+
Triterpenoid	-
Fenolik	+
Tanin	+

Keterangan :

(+) =Positif mengandung metabolit sekunder

(-) =Negatif mengandung metabolit sekunder

2.3.3 Efek antioksidan daun sungkai

Tanaman sungkai dipergunakan untuk dijadikannya sebagai pengobatan guna penyakit seperti halnya demam, obat luka maupun juga antibakteri. Beberapa penelitian melaporkan kandungan senyawa fenol pada daun serta kulit batang sungkai. Ekstrak etanol 96% kulit batang daun sungkai terdapat metabolit sekunder tanin, Fenol, steroid, serta alkaloid serta juga hasil yang didapat daun sungkai mempunyai antibakteri yang jauh lebih tinggi dibanding dengan kulit batang sungkai.¹⁵ Kandungan flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, serta juga saponin terdapat pada ekstrak methanol sungkai

dengan uji fitokimia.³¹ Penelitian lainya melaporkan ekstrak metanol dan etanol sungkai terdapat kandungan antioksidan yang tinggi dengan nilai IC50 9.389 ± 0.679 ppm, serta juga kandungan antioksidan ekstrak etanol 96% daun Sungkai mempunyai nilai IC50 dengan jumlah sebanyak 13,97 ppm tergolong dalam antioksidan yang kuat.³²

2.4 Antioksidan

Salah satu mekanisme pertahanan yang sangat efektif dikenal sebagai "sistem pertahanan antioksidan", yang mencakup berbagai komponen fungsional endogen dan eksogen, untuk melindungi sel dan organ dari kerusakan oksidatif yang diinduksi ROS.³³ Komponen diturunkan secara sinergis untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan dapat membantu melindungi dari stres oksidatif dengan memberikan dampak positif pada kesehatan, dibuktikan secara ilmiah antioksidan dapat bekerja secara signifikan mengurangi risiko berbagai penyakit kronis yang mempengaruhi hampir setiap sistem organ, termasuk kanker.³⁴ Mekanisme antioksidan dapat menghilangkan radikal bebas dan non radikal dengan cara yang berbeda tergantung pada sifat ROS yang diperlukan untuk netralisasi. Dua mekanisme itu yaitu penghilangan inisiator ROS dan mekanisme pemutusan rantai.³⁴

Penghambatan enzim yang terlibat dalam pembentukan ROS, seperti xanthine oksidase (XO) salah satu sumber utama produksi anion peroksida. Peroksida lipid yang dihasilkan oleh lipoksigenase selama jalur metabolisme arakidonat, antioksidan bertindak dengan menghambat enzim sehingga tidak merusak sistem seluler. Sumber utama radikal bebas lainnya berupa ion logam

transisi bebas sebagai pro oksidan terkait dengan protein pembawa sehingga beracun bagi tubuh. Beberapa protein pengikat logam yang mampu bereaksi dengan hidropersida menghasilkan radikal bebas yaitu laktoferin dan feritin, protein ini berfungsi menjaga tekanan oksidan yang diinduksi oleh besi tetap terkendali berupa protein ceruloplasmin dan albumin masing masing sekuestran tembaga dan besi.³³ Mekanisme pemutusan reaksi rantai, antioksidan mengikat radikal bebas dengan mendonorkan elektron sambil mengoksidasi diri selama proses tersebut, reaksi berantai spesies reaktif ditangkap dengan bantuan antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas yang terbentuk selama reaksi. Mekanisme ini dikenal dengan antioksidasi pemecah rantai.³⁵

2.5 Monosodium glutamat (MSG)

2.5.1 Definisi Monosodium glutamat (MSG)

Monosodium glutamat (MSG) adalah garam natrium alami dari asam glutamate, digunakan sebagai penambah makanan olahan yang memberikan rasa umami dan meningkatkan rasa gurih.² Hasil pemurnian glutamat ataupun penggabungan sejumlah asam amino dengan jumlah yang kecil dari peptida yang dibuat selama hidrolisis protein nabati. Asam glutamat dikategorikan sebagai asam amino non-esensial, dikarenakan tubuh manusia bisa menghasilkan asam glutamat dengan cara sendiri.¹⁰ Asam glutamate terbentuk dari protein dasar yang ditemukan dalam berbagai macam daging, sayuran, ikan, serta juga ASI. Protein hewani memiliki kandungan 11 sampai dengan 22% asam glutamat serta juga protein nabati dengan jumlah sekitar

40% glutamat. Pada protein hewani seperti halnya keju, daging memiliki kandungan akan asam glutamat yang cukup terbilang tinggi, yang terikat pada protein yang lainnya. Lalu asam glutamate bentuk bebas terdapat pada sayuran seperti halnya kacang polong, tomat, serta juga kentang.³⁶ Monosodium glutamat berefek bila digunakan dalam jumlah antara 0,2-0,8%, dan penggunaan secara berlebihan justru bisa membuat rasa menjadi tidak enak. Jumlah maksimum MSG yang dapat meningkatkan cita rasa pada manusia adalah 60 mg/kgBB. WHO memperkirakan bahwa 200.000 ton MSG diproduksi setiap tahun dan 3 gram dikonsumsi setiap hari di berbagai macam negara Asia. Meluasnya penggunaan dari MSG membutuhkan pertimbangan yang lebih dalam tentang potensi efek negatif yang mungkin ditimbulkannya pada banyak sistem organ manusia.³⁷

2.5.2 Metabolisme Asam Glutamat

Metabolisme asam amino non-esensial glutamate di jaringan tubuh seperti pada hati 57% proses asam amino menjadi urea, 6% menjadi protein plasma, 23% diserap ke dalam aliran darah sebagai asam amino bebas, 14% sisanya dianggap disimpan sementara sebagai protein atau enzim hati. Selain bertindak sebagai neurotransmitter, monosodium glutamat sangat penting untuk pembentukan urea, glutathione, dan energi. Hal ini disebabkan tingginya kadar glutamat bebas dan aspartat yang ada di dalam sel. Asam amino ini membentuk antara 50 dan 70 persen dari semua asam amino bebas dan merupakan asam amino primer yang ada dalam mitokondria sel.³⁷ Sepanjang proses metabolisme pada tubuh, glutamat memainkan sejumlah peran penting,

termasuk:

a. Subtansi sintesa protein

Salah satu daripada banyak asam amino yang ditemukannya di sumber alami berupa glutamat. Protein diperkirakan mengandung 10–40% glutamat dalam tubuh, Asam L-glutamat merupakan komponen penting pada pembuatan protein baru, Asam glutamat mempunyai karakter fisik serta kimia jadi struktur sekunder dari protein yang disebut dengan rantai α .³⁸

b. Pasangan transmisi dengan α -ketoglutarate

L-glutamat dehidrogenase mengkatalisis sintesis L-glutamat dari amonia serta α -ketoglutarat (siklus asam sitrat). Semua asam amino di biosintesis melalui proses ini. Glutamat yang telah diserap ditransaminasi dengan piruvat untuk menghasilkan alanin. Ketika asam amino dekarboxylates mentransaminasi piruvat untuk membuat aketoglutarat atau oksaloasetat, alanin adalah produk akhirnya. Melalui vena porta, glutamat yang tidak dimetabolisme oleh mukosa diangkut ke hati. Sebagian besar glutamat diubah oleh hati dan usus menjadi glukosa dan laktat sebelum memasuki sirkulasi perifer.¹⁰

c. Prekursor glutamin

Peran penting dalam metabolisme asam amino yaitu *Glutamin sintetase* yang mengubah glutamat menjadi glutamin, sebelum memasuki sistem peredaran darah, amonia akan diubah menjadi glutamin. Dalam proses metabolisme karbohidrat dan protein, glutamat

dan glutamin adalah ikatan karbon dan nitrogen.³⁹

2.5.3 Toksisitas Asam Glutamat

Salah satu asam amino yang paling umum, sebagai tambahan berupa protein terhidrolisis atau garam monosodium murni, bahan ini digunakan sebagai penguat rasa pada berbagai kelompok makanan.¹¹ MSG pertama kali ditemukan di Jepang tahun 1908 dalam pestisida dan pupuk. Serta rumput laut yang digunakan untuk meningkatkan rasa. MSG sebelumnya diproduksi menggunakan prosedur ekstraksi yang memakan waktu dan mahal. Ini pertama kali tersedia di AS pada akhir 1940-an. Belakangan (1956), fermentasi memungkinkan sintesis asam glutamat dan MSG dalam skala luas. Sejak tahun 1957, fermentasi bakteri telah digunakan untuk memproduksi MSG di Amerika Serikat.⁴⁰

Penelitian tahun 2014 menyatakan bahwa Asia menghasilkan MSG paling banyak, dengan 94% dari kapasitas produksi global. Produksi skala besar di Asia mungkin karena konsumsi yang tinggi, tenaga kerja murah, dan penggunaan sebagai tambahan dalam makanan. MSG sebagian besar diproduksi di Indonesia, Taiwan, Thailand, China, serta juga Vietnam. China ialah produsen utama dunia (65%), konsumsi (55%), Pengekspor MSG terbesar kedua adalah Indonesia (16%). konsumsi MSG 4% di Timur Tengah dan Afrika, 3% di Eropa, 2% di Amerika Utara, dan 2% di Amerika Tengah dan Selatan.³⁶

Ada beberapa faktor di balik peningkatan konsumsi MSG secara global. Karena perubahan pola makan, pertumbuhan urbanisasi, peningkatan standar

hidup dan pertumbuhan industri pengolahan makanan yang berkelanjutan, permintaan MSG meningkat di negara-negara Asia.⁴⁰

Menurut BPOM produk makanan yang mengandung MSG aman untuk dikonsumsi manusia, Selain itu FAO merekomendasi MSG sebagai penguat rasa yang aman dikonsumsi.³⁷ Jumlah maksimal MSG yang dapat digunakan sehari-hari dalam makanan adalah 6 mg/kg tubuh manusia dewasa. Berat ini menunjukkan bahwa maksimum harian 2gram dapat digunakan. Tingkat glutamat darah yang tinggi dan spesies hewan yang rentan terhadap toksisitas glutamat adalah dua aspek yang berkontribusi terhadap efek berbahaya dari MSG pada hewan. Penelitian pada tikus *Wistar* dengan pemberiannya MSG dengan dosis 5 g/kg BB bisa membuat degenerasi lemak serta kongesti sinusoid, lalu dengan dosis sebanyak 10 g/kg BB bisa membuat terjadinya degenerasi hidropik maupun nekrosis dalam kondisi karioreksi, kemudian dengan dosis sebanyak 15 g/kg BB mengakitkannya degenerasi lemak maupun nekrosis pada kondisi piknosis.³⁷

2.6 Reactive oxygen species (ROS)

Oksigen adalah komponen kehidupan yang diperlukan untuk melakukan proses biologis termasuk katabolisme karbohidrat, protein, dan lipid. Menyediakan energi untuk pertumbuhan dan aktivitas lainnya. Namun, ditemukan juga bahwa oksigen dapat bertindak dengan cara yang sama sebagai racun pada jaringan hidup. Sementara itu oksigen memainkan peran dalam produksi beberapa *reactive oxygen species* (ROS) atau radikal bebas.³⁵

ROS diproduksi selama reaksi metabolisme atau melalui paparan radiasi,

berinteraksi dengan biomolekul dan akhirnya menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan gangguan klinis lainnya.⁴¹ Untuk bertahan dalam menghadapi kegiatan yang merusak, sistem pertahanan antioksidan terdiri dari kumpulan bahan kimia dan enzim yang terjadi secara alami yang bekerja untuk menetralkan radikal bebas dari ROS, sebelum dapat menyebabkan kerusakan jaringan.⁴² Beberapa antioksidan diproduksi dalam tubuh dan didapat dari suplemen makanan.³⁵

2.6.1 Metabolisme ROS

Mediator pengatur dalam proses pensinyalan atau pertahanan, ROS penting untuk sintesis eritropoietin, promosi apoptosis, angiogenesis, yang tergantung pada vasorelaxation endotel, dan eliminasi bakteri dan benda asing lainnya oleh makrofag.³⁵ Peningkatan kadar ROS yang disebabkan oleh proses homeostatik yang terhambat dapat membahayakan komponen seluler misalnya protein, lipid, DNA. Stres oksidatif terkait dengan penuaan dan berbagai penyakit manusia, termasuk gangguan inflamasi.⁴¹ Radikal bebas, yang terbentuk dengan cara yang terkontrol selama metabolisme seluler, juga dapat menyebabkan ROS diproduksi dengan cara yang tidak terkendali oleh gangguan metabolisme dan stresor eksternal.³⁵

Metabolisme normal ROS akan terus diproduksi dalam sistem biologis, Ada dua cara proses transfer elektron dapat menghasilkan: (i) reaksi enzimatik yang melibatkan xantin oksidase (XO), oksidase NADPH dan lipoksigenase, (ii) Urutan reaksi nonenzimatik meliputi aksi katalitik logam transisi bebas (seperti besi dan tembaga), efek toksik dari beberapa bahan kimia, seperti

doxorubicin, serangan elektron yang telah bocor dari rantai transpor elektron mitokondria, dan rantai, dan efek radiasi seperti sinar UV dan spesies non-radikal membentuk berbagai spesies reaktif yang diproduksi dalam sistem biologis.⁴¹

2.6.2 Efek kadar ROS yang tinggi

Efek dari ROS yang tinggi bereaksi dengan biomolekul DNA, lipid dan karbohidrat menyebabkan cedera lokal akhirnya menyebabkan disfungsi organ. Dalam pathogenesis berbagai kondisi klinis, ROS terlibat hampir disemua organ tubuh. Kerentanan membrane biologis terhadap peroksidasi terjadi karena adanya asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), adanya ikatan rangkap PUFA melemahkan ikatan CH dari atom karbon yang berdekatan dan memfasilitasi tahap abstraksi hydrogen yang pada gilirannya memulai reaksi peroksidasi.⁴¹ Membrane sel mengandung PUFA seperti asam arakidonat, linolenat dalam bentuk ester dengan fosfolipid, trigliserida, maupun kolesterol. Reaksi radikal bebas pada molekul PUFA mengubah beberapa struktur asam lemak menjadi peroksida lipid, merusak membran protein, membuat kebocoran dan merusak membrane.^{41,42}

2.6.3 Hubungan ROS dengan Flavonoid

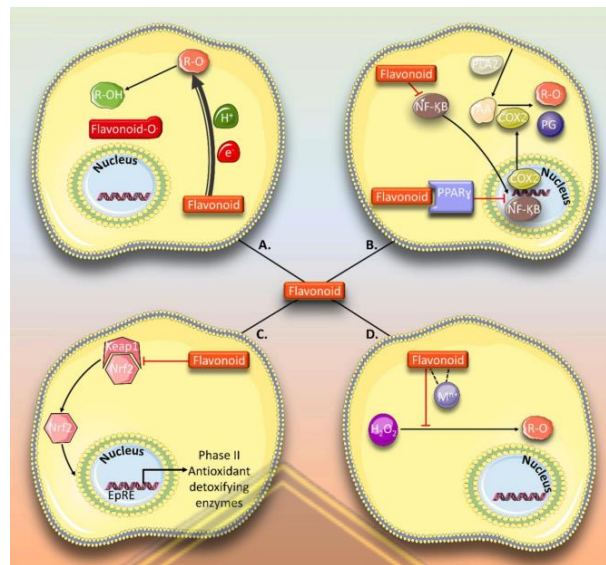
Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki peran penting dalam melindungi tanaman terhadap energi ultraviolet, mikroba, dan stres oksidatif.⁴³ ROS merupakan radikal bebas yang berfungsi sebagai pembawa pesan intraseluler yang menimbulkan kerusakan pada DNA, RNA, dan protein jika dalam jumlah besar.⁴⁴ Untuk mengurangi efek dalam mekanisme

perbaiki sel dengan potensi penggunaan terapi menggunakan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang melindungi molekul endogen dengan melemahkan cedera oksidatif.⁴⁵ Karena struktur flavonoid dapat memberikan efek antioksidan dengan bertindak sebagai agen pereduksi dalam beberapa reaksi.⁴³ Mekanisme yang mendasari flavonoid termasuk *scavenging* ROS, penghambatan oksidase yang bertanggung jawab untuk memproduksi anion superoksida, pengkhelet logam dan mengaktifkan enzim antioksidan.⁴³

Beberapa karakteristik struktural flavonoid memungkinkan kemampuan antioksidannya. Berdasarkan gugus hidroksil pada cincin B dan ikatan rangkap 2,3 terkonjugasi dengan fungsi 4-okso, flavonoid dapat mereduksi ROS, seperti radikal hidroksil, peroksil, dan peroksinitrit. Hal ini terjadi melalui donasi atom hidrogen serta elektron dari gugus hidroksil flavonoid. Reaksi yang kemudian menghasilkan radikal flavonoid yang relatif stabil.⁴⁵ Proses reduksi flavonoid yang lebih rendah, mulai dari 0,23 hingga 0,75 V, dibandingkan dengan radikal bebas (1,0-2,3 V), flavonoid menjalankan fungsi antioksidannya melalui dua reaksi transfer satu elektron. Pertama, radikal pengoksidasi tinggi direduksi, dan radikal flavonoid (*o-semiquinone*) terbentuk. Setelah itu, radikal flavonoid, tergantung pada strukturnya, memiliki tiga kemungkinan: bergabung dengan radikal pengoksidasi lain, donasi atom hidrogen lain membentuk kuinon, atau dimerisasi dengan radikal flavonoid lain.⁴³

Gugus hidroksil flavonoid diketahui dapat mereduksi radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen dan elektron. Reaksi ini juga menghasilkan radikal flavonoid yang relatif stabil.⁴⁵ Selain itu, kemampuan

flavonoid untuk menghambat enzim penghasil ROS seperti xantin oksidase, siklooksigenase, dan NADPH oksidase (NOX) adalah fungsi utama dari kapasitas antioksidan. Xantin oksidase adalah sumber ROS yang signifikan karena menghasilkan ion su peroksida sambil mengkatalisasi oksidasi xantin dan hipoksan tipis menjadi asam urat.⁴³ Flavonoid, karena tampilan karakteristik dan struktur campurannya, hidroksil pada posisi penghambatan 5 dan 7 di cincin xantin A berperan sebagai oksidase paling kompetitif-nonkompetitif.⁴⁶ Gugus penting berperan dalam penghambatan xanthine oksidasi.⁴³ Bagian bagian ini berinteraksi dengan residu asam amino di dekat tempat aktif enzim melalui ikatan hidrogen, sebuah interaksi yang dianggap penting untuk efek penghambatan.⁴⁶ Secara khusus, ikatan hidrogen dibentuk oleh C7-OH dengan Asn-768, Thr-1010, dan Glu-1261, dan oleh C5-OH dengan Arg-880 sesuai dengan pemodelan molekul berbasis struktur dan simulasi docking molekul. Rupanya, π -stacking antara ring B dan Phe-914 dari xantin oksidase semakin meningkatkan pengikatan situs aktif. Selain itu, ikatan rangkap 2,3 pada cincin C berdampak pada efek penghambatan flavonoid. Ikatan rangkap ini memungkinkan terjadinya konjugasi dan koplanaritas pada ketiga cincin flavonoid. Ini juga berkontribusi pada interaksi π - π yang mempengaruhi interaksi flavonoid dan enzim. Oleh karena itu, diduga bahwa flavonoid planar merupakan pusat penghambatan xanthine oksidase karena flavonoid non-planar tidak menunjukkan efek penghambatan tersebut.^{43,46}



Gambar 2.6 Fungsi yang berkontribusi terhadap kapasitas antioksidan flavonoid.⁴³

(A) Flavonoid mendonorkan atom hidrogen dan elektron ke radikal bebas (R-O•) sehingga mereduksinya. (B) Flavonoid menghambat NF-kB dari pengikatan ke elemen respons NF-kB nuklir (NF-kB RE). Selain itu, flavonoid bertindak sebagai ligan yang mengaktifkan PPAR γ yang pada gilirannya menghambat NF-kB RE. Elemen respon ini bertanggung jawab atas ekspresi COX-2, yang bekerja pada asam arakidonat (AA) untuk menghasilkan prostaglandin (PG) dan radikal bebas (R-O•). Oleh karena itu, penyumbatan ganda transkripsi COX-2 oleh flavonoid menghasilkan penurunan stres oksidatif. (C) Flavonoid mengganggu pengikatan Keap1 ke Nrf2. Hal ini memungkinkan translokasi nuklir Nrf2 dan aktivasi EpRE-nya, sehingga meningkatkan ekspresi enzim detoksifikasi fase II. (D) Flavonoid mengkhelat trace metal (Mn⁺) sehingga mencegah partisipasinya dalam reaksi Fenton dengan H₂O₂ untuk menghasilkan radikal bebas.⁴³

2.6.4 Hubungan ROS dengan Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin mampu mengikat protein, sehingga protein pada tanaman dapat resisten terhadap degradasi oleh enzim protease.⁴⁷ Tanin memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Semakin banyak kandungan tanin maka semakin besar aktivitas antioksidannya karena tanin tersusun dari senyawa polifenol yang memiliki aktivitas penangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan total fenol, semakin tinggi kandungan fenol dalam suatu bahan semakin tinggi pula aktivitasnya sebagai antioksidan.⁴⁷

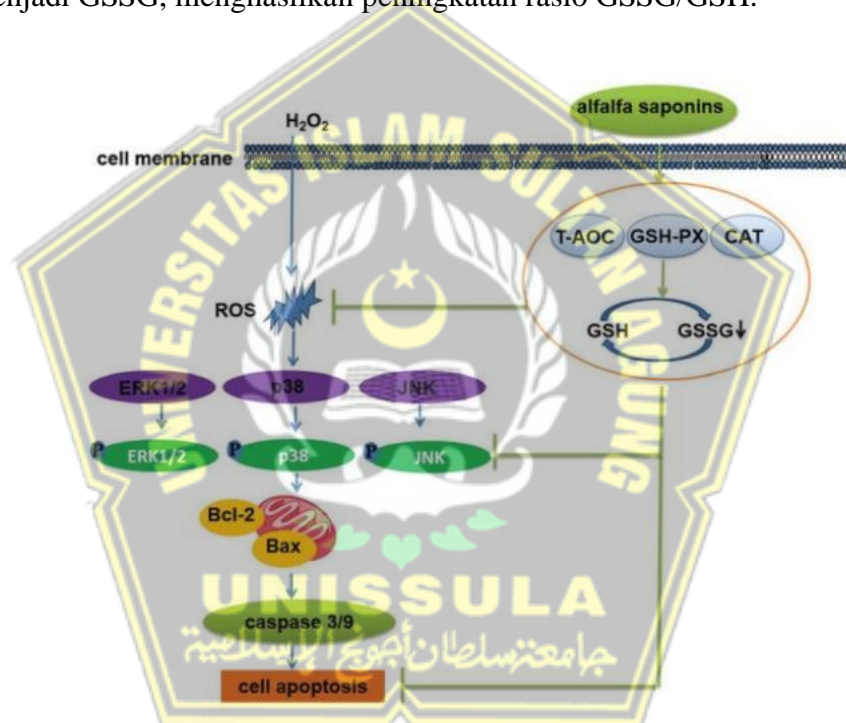
Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekat dan tanin terhidrolisis atau tanin galat. Tanin terhidrolisis dibagi menjadi dua yakni gallotanin dan ellagitanin. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks, mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis.⁴⁸

2.6.5 Hubungan ROS dengan Saponin

ROS biasanya dihasilkan selama proses metabolisme di semua organisme. Secara umum, sejumlah kecil radikal bebas diproduksi secara konstan, yang juga berkurang atau dihilangkan seiring waktu. Stres oksidatif akan terjadi ketika keseimbangan ini terganggu oleh ROS yang berlebihan.⁴⁹ Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan sel yang sering tercermin dari penurunan jumlah enzim antioksidan, peningkatan jumlah malondialdehid (MDA) atau laktat dehidrogenase (LDH), dan bahkan apoptosis sel.⁵⁰

Saponin dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan

meningkatkan kemampuan membersihkan radikal bebas. Efek antioksidan saponin dicapai dengan mengembalikan homeostasis GSH Agen sitotoksik oksidatif, H₂O₂, biasanya dianggap sebagai penyebab stres oksidatif yang selalu menginduksi apoptosis sel.⁵¹ GSH berperan penting dalam mempertahankan homeostasis redoks organisme. Begitu sel rusak akibat oksidasi, GSH berpartisipasi dalam reaksi antioksidan untuk dioksidasi menjadi GSSG, menghasilkan peningkatan rasio GSSG/GSH.⁵⁰



Gambar 2.7 Model peran saponin alfalfa dalam sel stres oksidatif.⁵⁰

Penelitian menunjukkan bahwa efek antioksidan saponin alfalfa pada kerusakan oksidatif pada sel IEC-6 dicapai dengan meningkatkan jumlah Sintesis GSH dan mengurangi rasio GSSG/GSH untuk memulihkan homeostasis GSH.⁵⁰ Saponin alfalfa dapat menghambat apoptosis sel melalui jalur pensinyalan MAPK dalam model stres oksidatif. Apoptosis adalah salah satu hasil penting dari kerusakan oksidatif dalam sel. Caspase-3 adalah

pelaksana apoptosis sel dan terlibat langsung dalam peristiwa apoptosis. Activated caspase-3 (cleaved caspase-3, 17 kDa) diaktifkan ketika sel menjalani apoptosis. Jalur transduksi sinyal MAPK terlibat dalam serangkaian reaksi fisiologis dan biokimia (seperti proliferasi sel, diferensiasi, metabolisme, transformasi, dan apoptosis). MAPK terutama terdiri dari tiga protein subfamili ERK1/2, p38 dan JNK. ERK1/2, JNK dan p38 MAPK dapat diaktifkan secara signifikan ketika terjadi kerusakan oksidatif pada sel epitel usus. Selain itu, aktivasi kinase ini selanjutnya akan mendorong peningkatan ekspresi proteoglikan, yang menyebabkan terjadinya apoptosis.⁵⁰

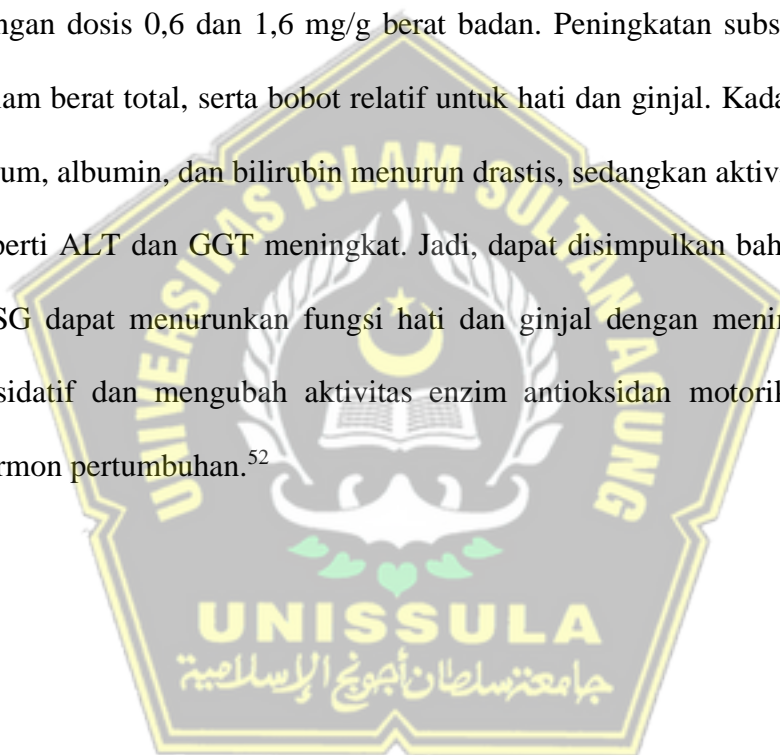
2.7 MSG penyebab terjadinya stress oksidatif

MSG menimbulkan efek samping berbahaya bagi manusia dan hewan uji.⁵² Munculnya anomali metabolisme/pencernaan pada sistem saraf, paru, dan peredaran darah merupakan salah satu efek negatif yang telah dilaporkan. Inti hipotalamus (inti arkuata dan nukleus ventromedial) tikus baru lahir yang terpapar MSG terbukti rusak secara substansial, menyebabkan peningkatan berat badan, penumpukan lemak, penurunan aktivitas motorik, dan sekresi hormon pertumbuhan.⁴⁰

Hati terlibat dalam detoksifikasi dan metabolisme, metabolit dan zat beracun dapat berdampak langsung, tikus yang diberi MSG (0,6 mg/g berat badan) selama 10 hari berturut-turut mulai menunjukkan tanda-tanda kerusakan hati.⁵³ Di hati tikus ditemukan peningkatan yang jelas dalam aktivitas glutathione *s-transferase* (GST), katalase, dan *superoksida oksidase* (SOD), serta *peroksidasi lipid* (LPO). Selain itu, karena peningkatan aktivitas

GST, jumlah glutathione tereduksi (substrat GST) di hati menurun. Menunjukkan perkembangan kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh produksi spesies oksigen reaktif (ROS). pemberian MSG juga meningkatkan aktivitas alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), dan γ -glutamyltransferase (GGT) dalam serum.⁴⁰

Penelitian lain melaporkan tikus yang diberi MSG selama dua minggu dengan dosis 0,6 dan 1,6 mg/g berat badan. Peningkatan substansial terlihat dalam berat total, serta bobot relatif untuk hati dan ginjal. Kadar protein total serum, albumin, dan bilirubin menurun drastis, sedangkan aktivitas enzim hati seperti ALT dan GGT meningkat. Jadi, dapat disimpulkan bahwa pemberian MSG dapat menurunkan fungsi hati dan ginjal dengan meningkatkan stres oksidatif dan mengubah aktivitas enzim antioksidan motorik, dan sekresi hormon pertumbuhan.⁵²



BAB III
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS
PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori

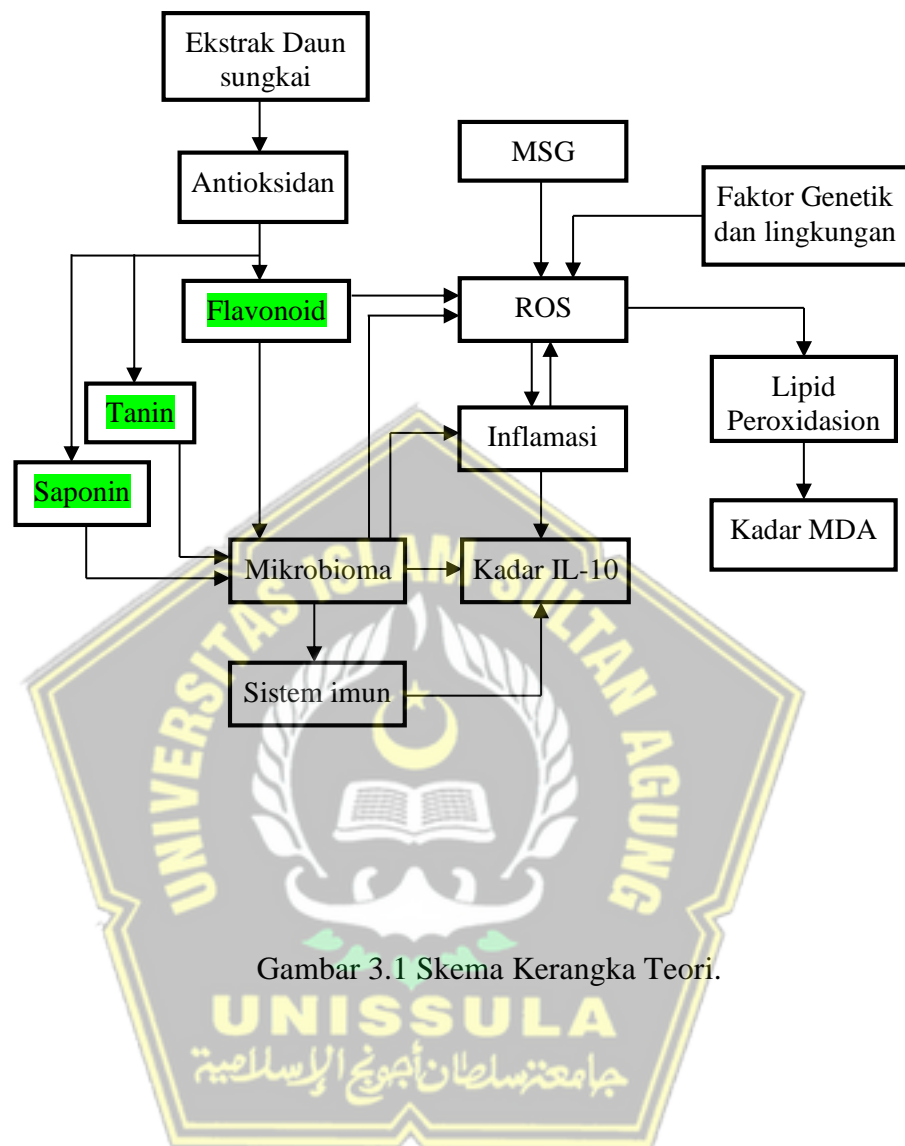
Konsumsi MSG secara berlebihan mengakibatkan penumpukan asam glutamat di dalam tubuh, meningkatkan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS).⁵⁴ ROS adalah mediator yang berperan dalam kerusakan lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat di dalam sel, stres oksidatif terkait dengan penuaan dan berbagai penyakit manusia, termasuk gangguan inflamasi.⁴²

ROS yang tidak stabil bersifat sangat reaktif, ketidak seimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan menyebabkan stres oksidatif, sampai pada kerusakan jaringan.³⁵ Sitokin anti inflamasi yaitu interleukin 10 (IL-10) menekan kadar sitokin pro-inflamasi dan berkontribusi untuk memperbaiki jaringan.²² Efek dari ROS yang tinggi bereaksi dengan biomolekul DNA, lipid dan karbohidrat menyebabkan cedera lokal akhirnya menyebabkan disfungsi organ. Dalam pathogenesis berbagai kondisi klinis, ROS terlibat hampir disemua organ tubuh sampai kerusakan jaringan.³³

Peroksidasi terjadi karena adanya asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), adanya ikatan rangkap PUFA melemahkan ikatan CH dari atom karbon yang berdekatan dan memfasilitasi tahap abstraksi hydrogen yang pada gilirannya memulai reaksi peroksidasi.⁴¹ Tingginya jumlah ikatan rangkap antar molekulnya, PUFA menjadi zat yang paling sering digunakan dalam proses oksidasi. PUFA merupakan bahan yang paling sering terlibat dalam

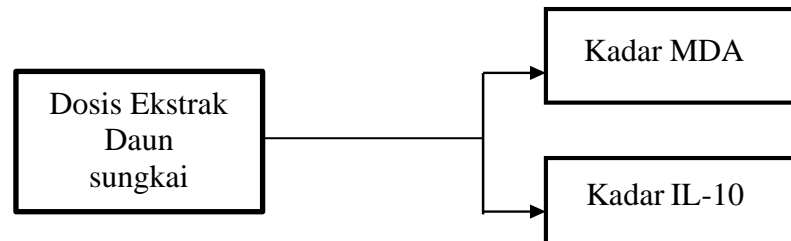
mekanisme oksidasi karena mengandung banyak ikatan ganda diantara molekulnya. Biomarker yang menjadi fokus perhatian dalam peroksidasi lipid salah satunya MDA, kadar MDA yang tinggi dipengaruhi oleh peroksidasi lipid, secara tidak langsung menandakan tingginya tingkat peroksidasi lipid dan menunjukkan bahwa membran sel sedang mengalami oksidasi. Kadar MDA yang rendah biasanya diikuti oleh status antioksidan yang tinggi.¹⁸

Antioksidan dapat digunakan sebagai alternatif menurunkan gangguan inflamasi yang biasanya disebabkan oleh ROS karena memiliki kemampuan untuk memperlambat atau menghentikan proses oksidasi yang menghasilkan radikal bebas serta memutus rantai yang dapat merusak sel dan jaringan.⁵⁵ Kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens Jack*) memiliki aktivitas dan kandungan antioksidan yang kuat dengan adanya senyawa fenol dan flavonoid, dapat menurunkan kadar asam lemak dengan menghambat aktivitas enzim XO, mendonorkan atom H⁺, mencegah stress oksidatif dan menetralkan radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan sel.⁵⁶ Pemberian ekstrak daun sungkai diharapkan dapat menurunkan kadar MDA dan kadar IL-10 yang diakibatkan MSG.



Gambar 3.1 Skema Kerangka Teori.

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.3 Skema kerangka konsep

3.3 Hipotesis Penelitian

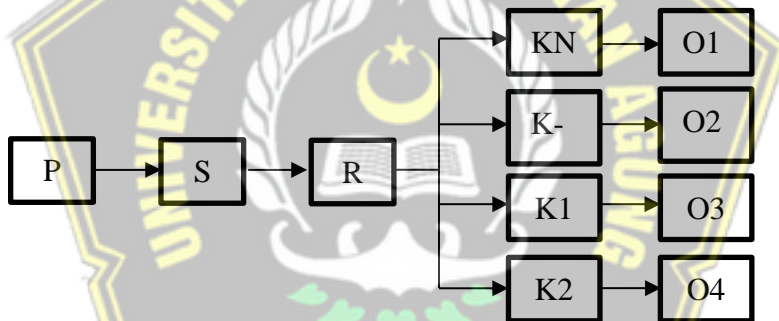
- a. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai (*Peronema Canescens Jack*) dengan dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) terhadap penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus *Wistar* yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG).
- b. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sungkai (*Peronema Canescens Jack*) dengan dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr) terhadap peningkatan kadar interleukin 10 (IL-10) pada tikus *Wistar* yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG).

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorium terhadap hewan coba dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Subjek penelitian menggunakan tikus Wistar jantan *Rattus norvegicus*. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok normal, kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2.



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

P : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

K-: Kelompok normal (Tanpa induksi MSG dan ekstrak daun sungkai, diberi pakan standar selama 21 hari).

K+: Kelompok kontrol negatif (diinduksi MSG dosis 1g/ekor (Tikus 200gr) dalam 2ml aquadest/hari tanpa diberi ekstrak daun sungkai selama 21 hari).

K1: Kelompok perlakuan 1 (Diinduksi MSG dosis 1g/ekor (Tikus 200gr) dalam 2ml aquadest/hari dan diberi ekstrak daun sungkai dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dalam 2ml aquadest setiap hari selama 21 hari)

K2: Kelompok perlakuan 2 (Diinduksi MSG dosis 1g/ekor (Tikus 200gr) dalam 2ml aquadest/hari dan diberi ekstrak daun sungkai dosis 56 mg/ekor (Tikus 200gr) dalam 2ml aquadest setiap hari selama 21 hari).

O1: Observasi kadar MDA dan kadar IL-10 kelompok normal

O2: Observasi kadar MDA dan kadar IL-10 kelompok kontrol negatif

O3: Observasi kadar MDA dan kadar IL-10 kelompok perlakuan 1

O4: Observasi kadar MDA dan kadar IL-10 kelompok perlakuan 2

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus *Wistar* jantan (*Rattus norvegicus*) berumur 3-4 bulan dengan berat 200-250 gram sesuai dengan sampel yang telah ditentukan dalam penelitian. Tikus yang digunakan diperoleh dari laboratorium hewan coba Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Tikus *Wistar* diaklimasi selama satu minggu dan dipelihara di dalam ruangan dengan ventilasi yang baik, suhu ruangan 28-32°C. Tikus *Wistar* diberi pakan standar dan minum secukupnya.

a. Kriteria inklusi

- Tikus *Wistar* jantan
- Kondisi tikus sehat
- Umur 3-4 bulan

- Berat badan 120-250 gram

b. Kriteria Eksklusi

- Tikus dengan kelainan anatomi tubuh
- Tikus tidak sehat
- Berat badan kurang/melebihi 120-250 gram

c. Kriteria Eksklusi

- Tikus *Wistar* mati selama perlakuan dan mengalami infeksi

4.2.2 Sampel

Penelitian ini menggunakan jumlah sampel menurut WHO untuk hewan coba yaitu 5 ekor, untuk menjamin kecukupan jumlah tikus dengan memperhatikan kriteria inklusi dan eksklusi maka hewan coba yang digunakan masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 6 ekor. Pada penelitian ini terdapat 4 perlakuan maka jumlah sampel seluruhnya adalah 24 ekor tikus.

4.2.3 Cara Pemilihan Sampel

Pemilihan sampel dilakukan pada tikus *Wistar* yang telah memenuhi kriteria inklusi sehingga cukup homogen. Sampel diambil secara acak dari tikus yang sudah diaklimasi selama 1 minggu. Randomisasi digunakan untuk menentukan tikus kelompok kontrol dan perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian

- a. Variabel Bebas : Dosis ekstrak daun sungkai
- b. Variabel Tergantung : a. Kadar *Malondialdehyde* (MDA).
b. Kadar *Interleukin 10* (IL-10).
- c. Variabel Prakondisi : Pemberian *Monosodium glutamate* (MSG)

4.4 Definisi Operasional

4.4.1 Variabel bebas

Hasil ekstrak daun sungkai menggunakan etanol 70% dengan yang diberikan peroral kepada tikus jantan melalui sonde dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) dan 56 mg/ekor (Tikus 200gr), diberikan satu kali sehari selama 21 hari.

Skala data ordinal.

4.4.2 Variabel terikat

4.4.2.1 Kadar *Malondialdehyde* (MDA)

Kadar MDA diperoleh dari serum sampel darah. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-22 setelah perlakuan pada kantung *sinus orbitalis* tikus sebanyak 1 ml untuk pemeriksaan kadar MDA menggunakan metode TBA (*Thiobarbituric acid*) dibaca pada *spektrofotometer* 532nm dengan satuan nmL/mL. Skala data Rasio.

4.4.2.1 Kadar *Interleukin-10* (IL-10)

Kadar IL-10 diperoleh dari serum sampel darah. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-22 setelah perlakuan

pada kantung *sinus orbitalis* tikus sebanyak 1 mL untuk pemeriksaan IL-10 dengan metode ELISA (*IL-10 immunoassay*).

Skala data Rasio.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Peralatan penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Peralatan pembuatan ekstrak daun sukun terdiri dari *beaker glass*, vakum evaporator, oven, batang pengaduk, gelas ukur, blender, kain flannel. Peralatan untuk perlakuan hewan coba adalah kandang tikus, timbangan, dan jarum sonde.

Peralatan untuk perlakuan hewan coba dan pengambilan darah antara lain, tabung mikrohematokrit, timbangan elektrik, tabung *eppendoft*, pipa kapiler, *mikro sentrifuge*, tabung reaksi. Peralatan yang digunakan pada pengukuran MDA antara lain: Tabung Erlenmeyer (labu didih) 50 mL, 100 mL, Tabung pyrex 10 mL, Rak tabung, Vortex labinco L 46, Mikropipet 5 – 50 μ l, 100 – 1000 μ l, pipet *Pasteur*, pipet tetes, Alat gelas, *Centrifuge*, Balans, Spektrofotometer, dan ELISA reader.

Bahan penelitian ini antara lain: *Monosodium glutamate*, serum, Larutan asam *Trikloroasetat* (TCA) 20%, larutan asam *Tiobarbiturat* (TBA) 0,67%, Larutan standar *tetramethoxypropan* 99% *malonaldehyde* bis (*dimetyl asetat*) 99%. Plasebo, Kit IL-10 serum, *Biofin antibody*, *HRP conjugate*, *Reagent substar*, *stop solution*, pellet, Aquadest.

4.5.2 Pembuatan ekstrak daun sungkai

Daun sungkai didapatkan didaerah kota Jambi Provinsi Jambi karena

banyak tanaman sungkai tumbuh subur dan jenis daun sungkai yang digunakan adalah jenis daun sungkai sempurna karena bisa diperoleh sepanjang tahun, Serbuk daun sungkai sebanyak 1000 gram kemudian dimasukkan wadah berwarna gelap, aduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari dan sering kali dikocok. Rendaman tersebut disaring dengan kain flanel, ampas dicuci dengan pelarut sampai volume 750 mL. Hasil dipisahkan dengan vakum evaporator sampai didapat ekstrak kental.



4.5.3 Pengambilan darah dan pengumpulan serum

Pengambilan darah dilakukan melalui vena mata dengan menggunakan pipa kapiler. Darah ditampung dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 15 menit kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit, serum yang sudah terpisah dari endapan kemudian diambil dengan pipet 100 μ l.

4.6 Cara Penelitian

Penelitian menggunakan sampel sebanyak 24 ekor tikus Wistar jantan yang masuk dalam kriteria inklusi. Tikus Wistar diaklimasi selama 7 hari, dibagi empat kelompok dan diberi perlakuan :

- Kelompok Normal (KN) : Tikus *Wistar* tanpa diinduksi MSG dan ekstrak daun sungkai selama 21 hari.
- Kelompok Negatif (K-): Tikus *Wistar* diinduksi MSG dosis 1g/ekor (tikus 200gr) dalam 2ml aquadest dan tanpa ekstrak daun sungkai selama 21 hari.
- Kelompok perlakuan 1 (K1): Tikus *Wistar* diinduksi MSG dosis 1g/ekor (tikus 200gr) dalam 2ml aquadest dan diberi ekstrak daun sungkai dosis 28 mg/ekor (tikus 200gr) dalam 2ml aquadest secara oral selama 21 hari.
- Kelompok perlakuan 2 (K2): Tikus *Wistar* diinduksi MSG dosis 1g/ekor (tikus 200gr) dalam 2ml aquadest dan diberi ekstrak daun sungkai dosis 56 mg/ekor (tikus 200gr) dalam 2ml aquadest secara oral selama 21 hari.

Pada hari ke 22 dilakukan pengambilan darah pada semua tikus melalui sinus orbitalis mata, kemudian diproses untuk mendapatkan serum dan diukur

kadar MDA dengan metode *Thiobarbituric acid assay* (TBARS) dan IL-10 dengan metode ELISA.

4.6.1 Prosedur pengukuran kadar MDA metode TBARS

Pada hari ke-22 dilakukan pengukuran MDA setelah pemberian ekstrak daun sungkai sesuai masing-masing kelompok. Pengukuran kadar MDA diperiksa dengan metode *Thiobarbituric acid assay* (TBARS) dengan cara sebagai berikut :

1. Darah tikus diambil melalui kantung *sinus orbitalis* sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan dalam tabung sentrifuge.
2. Sampel darah disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit, diambil supernatan sebanyak 500 μ l, kemudian dimasukkan kedalam tabung sentrifuge.
3. Tambahkan larutan TCA 20% sebanyak 500 μ l dan tambahkan larutan TBA 1% dalam CH_3COOH glasial 50%.
4. Dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 95°C selama 45 menit.
5. Kemudian dinginkan pada suhu ruang
6. Sentrifugasi kecepatan 3000 rpm selama 30 menit
7. Ambil 500 μ l Filtrat dengan menggunakan mikropipet
8. Kepekatan warna dibaca dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 532 nm.

4.6.2 Prosedur pengukuran kadar IL-10 metode ELISA

Pada hari ke-22 dilakukan pengukuran IL-10 setelah pemberian ekstrak daun sungkai sesuai masing-masing kelompok. Pengukuran kadar IL-10 diperiksa dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA):

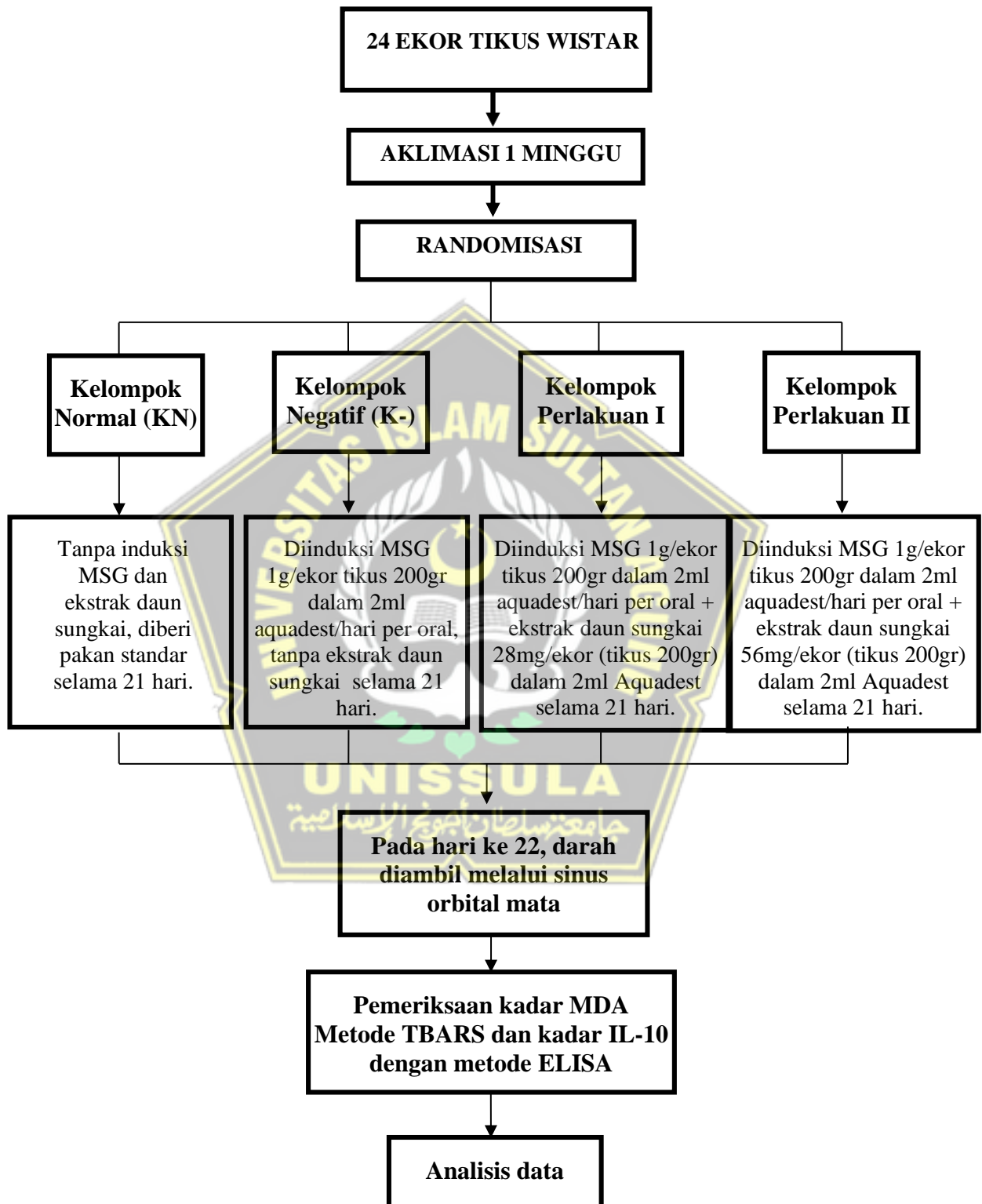
1. Larutan standar dan sampel disuhu ruangan terlebih dahulu sebelum digunakan. Pengujian dilakukan pada suhu ruang.
2. Menentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip yang tersisa ke dalam aluminium zip untuk disimpan
3. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C.
4. Tambahkan 50µl standar ke sumuran standar. Catatan: Jangan menambahkan antibodi ke standar karena larutan standar mengandung antibodi terlabel biotin.
5. Tambahkan 40µl sampel ke sumuran sampel lalu tambahkan 10µl antibody IL-10 ke sumuran etiket sampel, tambahkan 50µl *streptavidin-HRP* ke sumuran sampel dan sumur standar. Campur dengan baik. Tutupi plate dengan sealer. Inkubasi 60 menit pada suhu 37°C.
6. Lepaskan sealer dan cuci sumuran 5 kali dengan wash buffer setidaknya 0,3 ml selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian.
7. Tambahkan 50µl larutan substrat A ke masing-masing sumuran

dan kemudian tambahkan 50 μ l larutan substrat B ke setiap sumuran

8. Inkubasi plate yang ditutup dengan sealer baru selama 10 menit pada suhu 37°C di tempat gelap.
9. Tambahkan 50 μ l *Stop Solution* ke masing-masing sumuran, warna biru akan langsung berubah menjadi kuning.
10. Tentukan nilai *Optical Density* (OD) masing-masing sumuran menggunakan *microplate reader* yang diset pada 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan stop solution.



4.6.3 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema alur penelitian

4.7 Analisis Statistik

Data yang diperoleh dari penelitian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan dilakukan uji homogenitas dengan *Levene test* ($p > 0,05$). Untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok digunakan uji ANOVA *one way* ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Post hoc/LSD* untuk mengetahui perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$).

4.8 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

4.8.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang.

4.8.2 Waktu Penelitian

Penelitian dimulai dari persiapan hewan coba sampai proses pengambilan data yaitu bulan 12 Juli- 20 Agustus 2023.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder pada serbuk simplisia daun sungkai menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid.⁵⁶ Penelitian ini menganalisis secara kuantitatif kadar flavonoid ekstrak daun sungkai pada serbuk simplisia menggunakan pelarut etanol 70% didapatkan hasil sebesar 53,3 mg/ml. Hasil ini lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar flavonoid ekstrak kulit batang sungkai sebesar 29.41 ± 0.64 mg ekuivalen kuersetin/g ekstrak.⁵⁷

5.1.1 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar MDA

Setelah dilakukan pemberian perlakuan pada 4 kelompok uji selama 21 hari, dilakukan pengambilan sampel darah dan disentrifuge untuk mendapatkan serum pada hari ke 22, hasil pengukuran kadar MDA pada berbagai kelompok tergambar pada tabel deskriptif berikut:

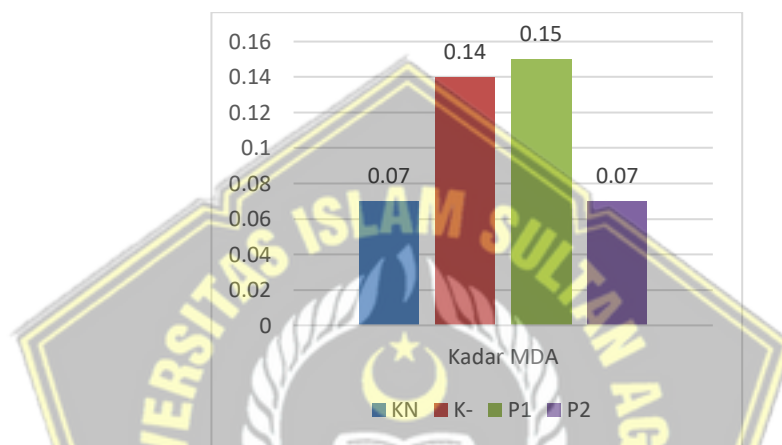
Tabel 5.1 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar MDA antar kelompok perlakuan

Kelompok	KN	K-	P1	P2	<i>P value</i>
Tikus 1	0.08	0.12	0.11	0.08	
Tikus 2	0.07	0.12	0.14	0.06	
Tikus 3	0.06	0.15	0.15	0.07	
Tikus 4	0.07	0.15	0.19	0.08	
Tikus 5	0.07	0.17	0.14	0.06	
Mean	0.07	0.14	0.15	0.07	
SD	± 0.01	± 0.02	± 0.03	± 0.01	
<i>Shapiro wilk</i>	0.325*	0.272*	0.601*	0.119*	
<i>Levene test</i>					0.132**

Keterangan: * = normal ($p > 0,05$)

** = homogen ($p > 0,05$)

Berdasarkan Tabel 5.1 dan Grafik 5.1 menunjukkan rata-rata kadar MDA kelompok normal (KN) adalah $0,070 \text{ mg/ml} \pm 0,007$, Kelompok negatif (K-) $0,142 \text{ mg/ml} \pm 0,217$, rata-rata kelompok perlakuan 1 (P1) $0,146 \text{ mg/ml} \pm 0,029$ dan kelompok perlakuan 2 (P2) $0,070 \text{ mg/ml} \pm 0,010$.



Gambar 5.1 Grafik nilai rata-rata kadar MDA tiap kelompok

Rata-rata kadar MDA terendah pada kelompok normal (KN) Pada kelompok negatif (K-) dengan pemberian MSG 1gr/tikus mengalami peningkatan kadar MDA, pada kelompok perlakuan 1 (K1) dengan pemberian MSG 1gr/tikus dan ekstrak daun sungkai dosis 28 mg/tikus kadar MDA tidak mengalami penurunan, bahkan cenderung meningkat, sedangkan sepada kelompok perlakuan 2 (K2) dengan pemberian MSG 1gr/tikus dan ekstrak daun sungkai 56 mg/tikus mengalami penurunan kadar MDA atau sama dengan kelompok normal. Data hasil kadar MDA keempat kelompok semuanya berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan juga memiliki varian data yang homogen dengan nilai 0,132 ($p > 0,05$).

5.1.2 Uji *one way anova* dan *post hoc LSD* kadar MDA

Berdasarkan hasil uji *one way anova* diperoleh nilai 0,000 ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan rata-rata kadar MDA yang bermakna diantara keempat kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Perbedaan kadar MDA tersebut ditunjukkan oleh pasangan kelompok, dengan hasil uji *post hoc LSD* pada tabel dibawah ini:

Tabel 5.2 Perbedaan rata-rata kadar MDA tiap kelompok

Kelompok	KN	K-	P1	P2
KN	-	0,000*	0,000*	1,000
K-	0,000*	-	0,744	0,000*
P1	0,000*	0,744	-	0,000*
P2	1,000	0,000*	0,000*	-

Keterangan: * Bermakna $p < 0,05$

Berdasarkan Tabel 5.4 Kadar MDA kelompok normal (KN) dengan uji *post hoc LSD* berbeda bermakna dengan kelompok negatif (K-), KN berbeda bermakna dengan kelompok P1 dan KN tidak bermakna dengan P2. K- berbeda bermakna dengan kelompok KN, K- tidak bermakna dengan P1 dan KN berbeda bermakna dengan kelompok P2. P1 berbeda bermakna dengan KN, P1 tidak bermakna dengan K-, dan P1 berbeda bermakna dengan P2. P2 tidak bermakna dengan KN, P2 berbeda bermakna dengan K-, dan P2 berbeda bermakna dengan P1.

5.1.3 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar IL-10

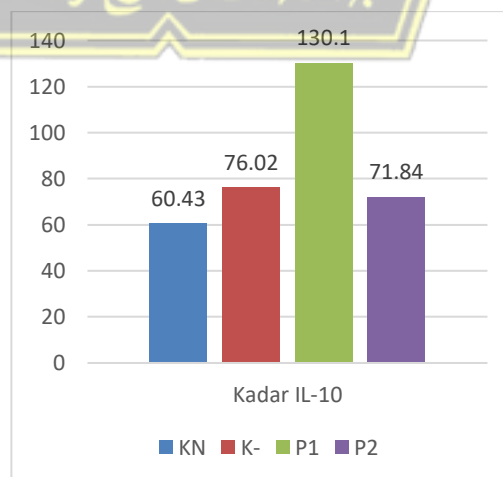
Tabel 5.3 Uji deskriptif, normalitas dan homogenitas kadar MDA antar kelompok perlakuan

Kelompok	KN	K-	P1	P2	<i>p value</i>
Tikus 1	63,271	77,890	147,804	58,920	
Tikus 2	46,134	81,824	116,058	69,025	
Tikus 3	87,156	79,246	128,810	81,177	
Tikus 4	61,953	74,029	138,678	80,451	
Tikus 5	43,620	67,136	119,129	69,634	
Mean	60,43	76,02	130,10	71,84	
SD	±17,40	±5,71	±13,29	±9,23	
<i>Shapiro wilk</i>	0,603*	0,425*	0,693*	0,428*	
<i>Levene test</i>					0,28**

Keterangan: * = normal ($p > 0,05$)

** = homogen ($p > 0,05$)

Berdasarkan Tabel 5.3 dan Grafik 5.2 menunjukkan rata-rata kadar IL-10 kelompok normal (KN) adalah 60,427 pg/ml ± 17,40, kelompok negatif (K-) 76,02 pg/ml ± 5,71, kelompok perlakuan 1 (P1) 130,096 pg/ml ± 13,287 dan kelompok perlakuan 2 (P2) 71,841 pg/ml ± 9,233.



Gambar 5.2 Grafik nilai rata-rata kadar IL-10 tiap kelompok

Berdasarkan Grafik 5.2 Kadar rata-rata IL-10 yang terendah pada kelompok normal (KN) tanpa pemberian MSG dan ekstrak daun sungkai didapat hasil 60,427 pg/ml \pm 17,40 pg/mL, kadar IL-10 mengalami peningkatan pada kelompok negatif (K-) dengan nilai rata-rata 76,02 pg/ml \pm 5,71 sedangkan nilai tertinggi pada kelompok perlakuan 1 (P1) dengan pemberian ekstrak sungkai dosis 28 mg/tikus didapatkan hasil 130,096 pg/ml \pm 13,287, kadar IL-10 mengalami penurunan pada Kelompok perlakuan 2 (P2) dengan pemberian ekstrak daun sungkai 56 mg/tikus didapat nilai dengan rata-rata 71,841 pg/ml \pm 9,233. Data kadar IL-10 keempat kelompok semuanya terdistribusi normal ($p>0,05$), dan memiliki varian data yang homogen dengan nilai 0,28 ($p>0,05$).

5.1.2 Uji *one way anova* dan *post hoc LSD* kadar IL-10

Berdasarkan hasil uji *one way anova* diperoleh nilai 0,000 ($p<0,05$) menunjukkan ada perbedaan rata-rata kadar IL-10 yang bermakna diantara keempat kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Perbedaan kadar IL-10 tersebut ditunjukkan oleh pasangan kelompok, dengan hasil uji *post hoc LSD* pada tabel dibawah ini:

Tabel 5.4 Perbedaan rata-rata kadar IL-10 tiap kelompok

Kelompok	KN	K-	P1	P2
KN	-	0,061	0,000*	0,159
K-	0,061	-	0,000*	0,596
P1	0,000*	0,000*	-	0,000*
P2	0,159	0,596	0,000*	-

Keterangan: * Bermakna $p < 0,05$

Berdasarkan Tabel 5.4 Kadar IL-10 kelompok normal (KN) dengan uji *post hoc* LSD tidak bermakna dengan kelompok negatif (K-), KN berbeda bermakna dengan P1, KN tidak bermakna dengan P2. K- tidak bermakna dengan kelompok KN, K- berbeda bermakna dengan P1 dan K- tidak bermakna dengan P2. P1 berbeda bermakna dengan KN, P1 berbeda bermakna dengan K-, dan P1 berbeda bermakna dengan P2. P2 tidak bermakna dengan KN, P2 tidak bermakna dengan K-, dan P2 berbeda bermakna dengan P1.

5.2 Pembahasan

Hasil uji pada ekstrak daun sungkai didapat hasil dengan kandungan 53,3 mg/ml yang tergolong memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi. Pemberian ekstrak daun sungkai sebagai antioksidan berpengaruh menurunkan kadar MDA pada tikus yang diinduksi MSG 1g/tikus selama 21 hari pada kelompok 2 dengan dosis 56 mg/tikus yaitu dengan rata-rata $0,070 \pm 0,010$ mg/ml. Sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Kassab et al. (2022) dan Elmas et al (2023) menunjukkan bahwa pemberian MSG berlebih meningkatkan kadar MDA yang ditandai dengan penurunan kadar glutathione dan penurunan aktivitas *superoksida dismutase, katalase, glutathione peroksidase, dan glutathione reductase*.^{58,59} Penelitian lainnya oleh Dillasamola et al (2021) ekstrak sungkai merangsang sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan jumlah leukosit, proporsi limfosit, aktivitas dan kemampuan fagositosis sel makrofag, jumlah leukosit, jumlah sel neutrofil segmental, dan kadar sitokin proinflamasi (TNF- dan IL-6).¹⁷

Pemberian ekstrak daun sungkai dosis 28 mg/tikus pada kelompok 1 tidak

memberikan efek pada penurunan kadar MDA, pemberian MSG secara berlebih menyebabkan stress oksidatif, efek kandungan antioksidan daun sungkai masih terlalu kecil untuk menangkal radikal bebas maupun menurunkan kadar MDA dan menghambat reaksi oksidasi serta melindungi membran lipid terhadap reaksi yang merusak. Stres oksidatif terjadi ketika tidak tersedia cukup antioksidan untuk melawan radikal bebas. Penurunan aktivitas enzim antioksidan seperti kadar superoksida dismutase (SOD) dan glutathione (GSH) menyebabkan peningkatan kerusakan oksidatif.⁵⁹ MDA merupakan salah satu parameter kerusakan membran sel, menunjukkan kepadatan serangan radikal oksigen dalam sel reaktif dan metabolisme radikal bebas. Penurunan SOD dan peningkatan MDA memicu stres oksidatif dan menyebabkan kerusakan sel sehingga mengakibatkan kematian sel.⁶⁰

Penelitian oleh Lestari et al. (2021) yang melaporkan gambaran mikroskopis histologi hepar dengan pemberian MSG dosis 5 g/kg BB menunjukkan jumlah abnormalitas sel sebesar 40,5 (40-43)% dengan kerusakan sedang, ditemukannya degenerasi lemak dan kongesti sinusoid.³⁷ Penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Setiani et al. (2016) menggunakan MSG dosis 173,6 mg/kg BB/hari menyebabkan kerusakan hepatosit berupa perlemakan hati mikrovesikular dan peradangan sel. Pemberian ekstrak daun sungkai dapat memperbaiki (reversible) peradangan sel pada mitokondria dan retikulum endoplasma akibat gangguan oksidasi, komponen aktif daun sungkai meningkatkan kekuatan total antioksidan didalam darah dan menurunkan *peroxidation level*.

Hasil menunjukkan peningkatan signifikan kadar IL-10 pada kelompok perlakuan 1 (P1) dengan nilai rata-rata 130,096 pg/ml \pm 13,287, mekanisme

glutamat secara endogen berperan dalam proses fisiologis serta patologis, glutamat memproduksi energi dalam eritrosit, zat perantara dalam metabolisme protein, prekursor metabolit penting seperti GSH, modulator stress oksidatif dan neurotransmitter sistem saraf pusat (SSP).⁹ Pengaruh ini dimediasi oleh faktor asupan ekstrak daun sungkai yang memodulasi sinyal jalur dan mempengaruhi berbagai mekanisme yang terlibat dalam peradangan.¹⁷ Peradangan ditandai dengan interaksi antara sitokin pro dan anti inflamasi terkait dengan infiltrasi sel imun yang memfasilitasi perkembangan lebih lanjut dari kerusakan jaringan.⁶¹ Pertahanan melawan stres oksidatif dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yang paling efektif adalah sistem pertahanan antioksidan.⁶²

Peningkatan total antioksidan dari daun sungkai memperbaiki kondisi peradangan dan menekan radikal bebas yang ditandai dengan penurunan kadar IL-10 pada kelompok 2 dosis 56 mg/tikus dengan nilai rata rata 71,841 pg/ml \pm 9,233, dan penurunan pada kadar MDA kelompok 2 dosis 56 mg/tikus dengan rata-rata 0,070 mg/ml \pm 0,010. Penelitian saat ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sungkai berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA serum pada dosis 56 mg/tikus dan berkorelasi dengan peningkatan tingkat sitokin anti-inflamasi IL-10 pada dosis 28 mg/tikus.

Keterbatasan dalam penelitian ini tidak menganalisa secara kuantitatif kadar tannin dan saponin pada ekstrak daun sungkai yang juga memiliki efek antioksidan, Parameter molekuler lain yang berkaitan dengan kadar MDA seperti kadar superoksida dismutase (SOD) dan glutathione (GSH), maupun sitokin pro-inflamasi (TNF- α dan IL-6).

BAB VI

KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

6.1.1 Pemberian ekstrak daun sungkai (*Peronema Canescens Jack*) menurunkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) dengan dosis 56 mg/ekor (Tikus 200gr) pada tikus *Wistar* jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG).

6.1.2. Pemberian ekstrak daun sungkai (*Peronema Canescens Jack*) meningkatkan kadar interleukin 10 (IL-10) pada dosis 28 mg/ekor (Tikus 200gr) pada tikus *Wistar* jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG).

6.2 Saran

6.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap parameter molekuler lain seperti kadar superoksida dismutase (SOD) dan glutathione (GSH), maupun sitokin pro-inflamasi (TNF- α dan IL-6)

6.2.2 Meneliti pengaruh daun sungkai terhadap gambaran histopatologi jaringan hati, ginjal maupun testis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Banerjee A, Mukherjee S, Maji BK. Worldwide flavor enhancer monosodium glutamate combined with high lipid diet provokes metabolic alterations and systemic anomalies: An overview. *Toxicol Rep.* 2021;8:938-961. doi:10.1016/j.toxrep.2021.04.009
2. Abd-Elkareem M, Soliman M, Abd El-Rahman MAM, Abou Khalil NS. The protective effect of *Nigella sativa* seeds against monosodium glutamate-induced hepatic dysfunction in rats. *Toxicol Rep.* 2022;9:147-153. doi:10.1016/j.toxrep.2022.01.014
3. Kayode OT, Rotimi DE, Kayode AAA, Olaolu TD, Adeyemi OS. Monosodium glutamate (MSG)-Induced male reproductive dysfunction: A mini review. *Toxics.* 2020;8(1). doi:10.3390/toxics8010007
4. Busch CJ, Binder CJ. Malondialdehyde epitopes as mediators of sterile inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2017;1862(4):398-406. doi:10.1016/j.bbalip.2016.06.016
5. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014. doi:10.1155/2014/360438
6. Verma R, Balakrishnan L, Sharma K, et al. A network map of Interleukin-10 signaling pathway. *J Cell Commun Signal.* 2016;10(1):61-67. doi:10.1007/s12079-015-0302-x
7. Hutchins AP, Diez D, Miranda-Saavedra D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: Recent developments and future challenges. *Brief Funct Genomics.* 2013;12(6):489-498. doi:10.1093/bfpg/elt028
8. Primair Yani dan Ari Yoga Pratama Prodi Pendidikan Biologi Jurusan AP. *Yani AP, Pratama AY. Efek Samping Penggunaan Daun Sungkai (Peronema Canescens Jack) Sebagai Obat Tradisional Suku Lembak Pada Mencit (Mus Musculus). SEMIRATA 2015.* 2015;4(1).; 2015.
9. Zanghiesi A, Ungurianu A, Tsatsakis AM, et al. A Review of the Alleged Health Hazards of Monosodium Glutamate. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* Published online 2019. doi:10.1111/1541-4337.12448
10. Hajihasani MM, Soheili V, Zirak MR, Sahebkar A, Shakeri A. Natural products as safeguards against monosodium glutamate-induced toxicity. *Iran J Basic Med Sci.* 2020;23(4):416-430. doi:10.22038/IJBMS.2020.43060.10123
11. Bera TK, Kumar Kar S, Yadav K, Mukherjee P, Yadav S, Joshi B. Effects of monosodium glutamate on human health: A systematic review. *World journal of pharmaceutical sciences.* 2017 Apr 26;139-44. 2017. <http://www.wjpsonline.org/>
12. Rahman A, Rengganis GP, Prayuni S, et al. *Rahman A, Rengganis GP, Prayuni S, Sari TN, Pratiwi PD, Pratama S. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sungkai (Peronema Canescens) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Mencit. Journal of Healthcare Technology and Medicine.* 2022 Mar 11;7(2):614-20. Vol 7.; 2021. <https://covid19.who.int/>
13. Latief M, Lasmana Tarigan I, Sari PM, Aurora FE. *Antihyperuricemia Activity of Ethanol Extract of Sungkai Leaves-(Peronema Canescens Jack) in Male White Mice.* Vol 18.; 2021. <http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon>
14. Porro C, Cianciulli A, Panaro MA. The regulatory role of IL-10 in neurodegenerative diseases. *Biomolecules.* 2020;10(7):1-15. doi:10.3390/biom10071017
15. Pratiwi U, Muharni M, Ferlinahayati F, Yohandini H, Suheryanto S. Quantitative Phytochemical Analysis and Determination of Anti-Cholesterol Activity of Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Leaf Extracts. *Tropical Journal of Natural*

- Product Research*. 2021;5(10):1797-1802. doi:10.26538/tjnpr/v5i10.16
16. Fadlilaturrehman F KAPASI. Fadlilaturrehman F, Khairunnisa A, Putra AM, Sinta I. Uji Aktivitas Tabir Surya dan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 2021 Oct 25;6(2):322-30. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. Published online 2021.
 17. Dillasamola D, Aldi Y, Wahyuni FS, et al. Study of Sungkai (*Peronema canescens*, Jack) leaf extract activity as an immunostimulators with in vivo and in vitro methods. *Pharmacognosy Journal*. 2021;13(6):1397-1407. doi:10.5530/PJ.2021.13.177
 18. Jové M, Mota-Martorell N, Pamplona R, Pradas I, Martín-Gari M, Ayala V. The advanced lipoxidation end-product malondialdehyde-lysine in aging and longevity. *Antioxidants*. 2020;9(11):1-20. doi:10.3390/antiox9111132
 19. Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, et al. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/5276130
 20. Wyatt TA, Kharbanda KK, McCaskill ML, et al. Malondialdehyde-acetaldehyde-adducted protein inhalation causes lung injury. *Alcohol*. 2012;46(1):51-59. doi:10.1016/j.alcohol.2011.09.001
 21. Zhu X, Ng HP, Lai YC, et al. Scavenger Receptor Function of Mouse Fcγ Receptor III Contributes to Progression of Atherosclerosis in Apolipoprotein E Hyperlipidemic Mice. *The Journal of Immunology*. 2014;193(5):2483-2495. doi:10.4049/jimmunol.1303075
 22. Pereira L, Font-Nieves M, Van den Haute C, Baekelandt V, Planas AM, Pozas E. IL-10 regulates adult neurogenesis by modulating ERK and STAT3 activity. *Front Cell Neurosci*. 2015;9(FEB). doi:10.3389/fncel.2015.00057
 23. Verma R, Balakrishnan L, Sharma K, et al. A network map of Interleukin-10 signaling pathway. *J Cell Commun Signal*. 2016;10(1):61-67. doi:10.1007/s12079-015-0302-x
 24. Hutchins AP, Diez D, Miranda-Saavedra D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: Recent developments and future challenges. *Brief Funct Genomics*. 2013;12(6):489-498. doi:10.1093/bfgp/elt028
 25. Lobo-Silva D, Carriche GM, Castro AG, Roque S, Saraiva M. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *J Neuroinflammation*. 2016;13(1). doi:10.1186/s12974-016-0763-8
 26. Saxton RA, Tsutsumi N, Su LL, et al. Structure-based decoupling of the pro- And anti-inflammatory functions of interleukin-10. *Science (1979)*. 2021;371(6535). doi:10.1126/science.abc8433
 27. De R, Malefyt W, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, De Vries JE. *Interleukin 10(EL, IL10) Inhibits Cytokine Synthesis by Human Monocytes: An Autoregulatory Role of IL-10 Produced by Monocytes*. <http://rupress.org/jem/article-pdf/174/5/1209/1102030/1209.pdf>
 28. Moore KW, De Waal Malefyt R, Coffman RL, O'garra A. *Interleukin-10 and the Interleukin-10 Receptor*.; 2001. www.annualreviews.org
 29. Gendro Sari S, Aulya D. *Morfologi Batang Dan Daun Sungkai (Peronema Canescens) Pada Lingkungan Tumbuh Yang Berbeda*. In *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat 2022 Dec 1 (Vol. 1, No. 1, Pp. 390-400)*.; 2022.
 30. Fransisca D, Kahanjak DN, Frethernety A. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. *JPLB*. 2020(1):460-470. <http://www.bkpsl.org/ojswp/index.php/jplbJPLB,4>
 31. Widodo H, Sismindari S, Asmara W, Rohman A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. *J Appl Pharm Sci*. 2019;9(6):99-105.

- doi:10.7324/JAPS.2019.90614
32. Ramadhani N, Giri Samudra A, Pertiwi R, et al. *Analisis Total Fenol Dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Sungkai (Peronema Canescens Jack). PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia), 19(1), Pp.66-79. Vol 19.; 2022.*
 33. Brillo V, Chierigato L, Leanza L, Muccioli S, Costa R. Mitochondrial dynamics, ros, and cell signaling: A blended overview. *Life.* 2021;11(4). doi:10.3390/life11040332
 34. Sachdeva M, Karan M, Singh T, Dhingra S. Oxidants and Antioxidants in Complementary and Alternative Medicine: A Review. *Spatula DD - Peer Reviewed Journal on Complementary Medicine and Drug Discovery.* 2014;4(1):1. doi:10.5455/spatula.20140131074751
 35. Huchzermeyer B, Menghani E, Khardia P, Shilu A. Metabolic Pathway of Natural Antioxidants, Antioxidant Enzymes and ROS Providence. *Antioxidants.* 2022;11(4). doi:10.3390/antiox11040761
 36. Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int J Food Prop.* 2017;20:1807-1815. doi:10.1080/10942912.2017.1295260
 37. Lestari SA, Wardani DPK, Sudarsono TA. Lestari SA, Wardani DP, Sudarsono TA. Efek monosodium glutamat terhadap gambaran histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. *Jurnal Media Analis Kesehatan.* 2021 Jun 29;12(1):56-63. *Jurnal Media Analis Kesehatan.* 2021;12(1):56. doi:10.32382/mak.v12i1.2000
 38. Bagian S, Palembang A. *Septadina IS. Pengaruh Monosodium Glutamat Terhadap Sistem Reproduksi. In Seminar Bagian Anatomi 2014 (Pp. 1-12). Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.; 2014.*
 39. Nahok K, Phetcharaburanin J, Li J V., et al. Monosodium glutamate induces changes in hepatic and renal metabolic profiles and gut microbiome of wistar rats. *Nutrients.* 2021;13(6). doi:10.3390/nu13061865
 40. Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int J Food Prop.* 2017;20:1807-1815. doi:10.1080/10942912.2017.1295260
 41. Ramos-Tovar E, Muriel P. Free radicals, antioxidants, nuclear factor-E2-related factor-2 and liver damage. *Journal of Applied Toxicology.* 2020;40(1):151-168. doi:10.1002/jat.3880
 42. Nowicka-bauer K, Nixon B. Molecular changes induced by oxidative stress that impair human sperm motility. *Antioxidants.* 2020;9(2). doi:10.3390/antiox9020134
 43. Slika H, Mansour H, Wehbe N, et al. Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2022;146. doi:10.1016/j.biopha.2021.112442
 44. Mitra S, Nguyen LN, Akter M, Park G, Choi EH, Kaushik NK. Impact of ROS generated by chemical, physical, and plasma techniques on cancer attenuation. *Cancers (Basel).* 2019;11(7). doi:10.3390/cancers11071030
 45. Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HelenMI. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(12):2821-2831. doi:10.1016/j.biocel.2013.10.004
 46. Dong Y, Huang H, Zhao M, Sun-Waterhouse D, Lin L, Xiao C. Mechanisms underlying the xanthine oxidase inhibitory effects of dietary flavonoids galangin and pinobanksin. *J Funct Foods.* 2016;24:26-36. doi:10.1016/j.jff.2016.03.021
 47. Yulianti I, Santoso J. *Identifikasi Tanin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Mangga (Dendrophthoe Petandra) Menggunakan Metode Maserasi Dan Sokletasi (Doctoral Dissertation, DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama);*

- 2021.
48. Mabruroh A. Uji aktivitas antioksidan ekstrak tanin dari daun rumput bambu (*Iopatherum gracile brongn*) dan identifikasinya (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim). Published online 2015.
 49. Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. *Oxid Med Cell Longev*. Published online 2013. doi:10.1155/2013/956792
 50. Cui Y, Liu B, Sun X, et al. Protective effects of alfalfa saponins on oxidative stress-induced apoptotic cells. *Food Funct*. 2020;11(9):8133-8140. doi:10.1039/d0fo01797c
 51. Di Meo F, Cuciniello R, Margarucci S, et al. Ginkgo biloba prevents oxidative stress-induced apoptosis blocking p53 activation in neuroblastoma cells. *Antioxidants*. 2020;9(4). doi:10.3390/antiox9040279
 52. Tawfik MS, Al-Badr N. Adverse Effects of Monosodium Glutamate on Liver and Kidney Functions in Adult Rats and Potential Protective Effect of Vitamins C and E. *Food Nutr Sci*. 2012;03(05):651-659. doi:10.4236/fns.2012.35089
 53. Farombi E. *Monosodium Glutamate-Induced Oxidative Damage and Genotoxicity in the Rat: Modulatory Rote of Vitamin C, Vitamin E and Quercetin*. Vol 25.; 2006. www.hetournal.com
 54. Gottardo FM, Silva APA da, Santos LR dos, Colla LM, Reinehr CO. Use of monosodium glutamate in foods: the good, the bad, and the controversial side. *ABCS Health Sciences*. 2022;47:e022305. doi:10.7322/abcshs.2020155.1609
 55. Ikrima K, Amalia R, Levita J. *Ikrima K, Amalia R, Mutakim M, Levita J. Peran Spesies Oksigen Reaktif Pada Inflamasi Serta Antioksidan Alamai Sebagai Fitoterapi*. *Farmaka*. 2019;17(3):198-211. Vol 17.
 56. Rahma CSA, Ardini D, Endah RM. *Secondary Metabolite Profile of Sungkai Leaves and Antioxidant Activity of Sungkai Leaf Ethanol Extract(Peronema Canescens J) Using DPPH Method Profil Metabolit Sekunder Daun Sungkai*. *Jurnal Analis Farmasi* 192 – 210.; 2022.
 57. Ramadhani N, Giri Samudra A, Pertiwi R, et al. *Analisis Total Fenol Dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Sungkai (Peronema Canescens Jack) Analysis of Total Phenol and Flavonoid Contents of Ethanol Extract of Sungkai (Peronema Canencens Jack) Bark*. Vol 19.; 2022.
 58. Kassab RB, Theyab A, Al-Ghamdy AO. Protocatechuic acid abrogates oxidative insults, inflammation, and apoptosis in liver and kidney associated with monosodium glutamate intoxication in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. Published online 2022:1-1-4.
 59. Acikel-Elmas M, Algilani SA, Sahin B, et al. Apocynin Ameliorates Monosodium Glutamate Induced Testis Damage by Impaired Blood-Testis Barrier and Oxidative Stress Parameters. *Life*. 2023;13(3). doi:10.3390/life13030822
 60. Jia YF, Feng Q, Ge ZY, et al. Obesity impairs male fertility through long-term effects on spermatogenesis. *BMC Urol*. 2018;18(1). doi:10.1186/s12894-018-0360-5
 61. Radwan RR, Mohamed HA. Nigella sativa oil modulates the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells against liver injury in irradiated rats. *J Photochem Photobiol B*. 2018;178:447-456. doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.11.037
 62. Abd S, Mosallam ER. Efficacy of Ascorbic Acid against Toxicity Initiated by Mono-Sodium Glutamate on Albino Mice. *IOSR Journal Of Pharmacy And Biological Sciences (IOSR-JPBS)*. 2020;15:PP. doi:10.9790/3008-1501010108