

**PENGARUH EKSTRAK KUNIR PUTIH (*CURCUMA ZEDOARIA*)
TERHADAP KADAR BILIRUBIN
Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Model Diabetes
Melitus**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

**Muna Dasa Azizah
30102100141**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH EKSTRAK KUNIR PUTIH (*CURCUMA ZEDOARIA*)
TERHADAP KADAR BILIRUBIN
(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Diabetes
Melitus)**

**Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Muna Dasa Azizah
30102100141**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 31 Oktober 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I


dr. Sampurna, M.Kes

Anggota Tim Penguji


dr. Bagas Widiyanto, M.Biomed

Pembimbing II


dr. Nurina Tyagita M.Biomed


Dr. Rita Kartika Sari, SKM., M.Kes

Semarang, 31 Oktober 2024
Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,

Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. KF, S.H

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muna Dasa Azizah

NIM : 30102100141

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KUNIR PUTIH (*CURCUMA ZEDOARIA*) TERHADAP KADAR BILIRUBIN

Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Model Diabetes Melitus”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan Tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh dan sebagian besar karta tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 31 Oktober 2024



Muna Dasa Azizah

PRAKATA

Assalammu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis diberikan kesehatan, kekuatan, kesabaran serta kemudahan dalam menyelesaikan skripsi yang berjudul, **“PENGARUH EKSTRAK KUNIR PUTIH (*CURCUMA ZEDOARIA*) TERHADAP KADAR BILIRUBIN” (Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Model Diabetes Melitus)**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Keberhasilan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari doa dari berbagai pihak yang telah berperan dalam memberi dukungan kepada penulis, maka pada kesempatan ini penulis ingin mengungkapkan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung
2. dr. Sampurna, M.Kes dan dr. Nurina Tyagita, M.Biomed selaku dosen pembimbing I dan dosen pembimbing II yang bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, saran dan dukungan agar penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. dr. Bagas Widiyanto, M.Biomed dan Dr. Rita Kartikasari, SKM., M.Kes selaku dosen penguji I dan dosen penguji II yang telah meluangkan waktu untuk memberi saran dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.

4. Kedua orang tua saya, H. Heri Martono, S.Kep., M.Kes., Ners dan Hj. Sulastri, A.Md.A.K yang telah memberikan dukungan, perhatian dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Kedua kakak saya, dr. Juan Kusuma Dias Pratana dan dr. Ilham Baasith Saputra serta kakak ipar saya dr. Anisa Hanif yang telah memberikan motivasi dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Teman dekat saya, Rafie Zidan yang telah menemani, memberi bantuan dan semangat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman bimbingan saya, Nurdiana, Gradis, Marshanda, Hesa dan Aliya yang telah banyak memberi bantuan, semangat dan doa satu sama lain sehingga bisa bersama-sama menyelesaikan skripsi ini.
8. Asisten Laboratorium Patologi Klinik yang sudah memberi motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Staff Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam menulis skripsi ini dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritk dan saran. Besar harapan penulis skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca serta dalam mengembangkan ilmu kedokteran.

Semarang, 31 Oktober 2024



Muna Dasa Azizah

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR	
PENGESAHAN	Error
! Bookmark not defined.	
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Bilirubin	6
2.1.1 Definisi Bilirubin	6
2.1.2 Karakteristik Bilirubin	6
2.1.3 Metabolisme Bilirubin	6
2.1.4 Metode Pemeriksaan Bilirubin	8
2.1.5 Faktor yang Memengaruhi Kadar Bilirubin	9

2.2	Kunir Putih	11
2.2.1	Taksonomi Kunir Putih	11
2.2.2	Morfologi Kunir Putih	12
2.2.3	Kandungan Kunir Putih	13
2.2.4	Potensi Kandungan Kunir Putih	13
2.3	Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus	14
2.3.1	Induksi Streptozotocin dan Niacinamide	14
2.3.2	Komplikasi Diabetes Melitus	15
2.4	Kerangka Teori	23
2.5	Kerangka Konsep	24
2.6	Hipotesis.....	24
BAB III METODE PENELITIAN		25
3.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	25
3.2	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	25
3.2.1	Variabel	25
3.2.1.1	Variabel Bebas	25
3.2.1.2	Variabel Tergantung.....	25
3.2.2	Definisi Operasional	25
3.2.2.1	Kunir Putih.....	25
3.2.2.2	Kadar Bilirubin	25
3.3	Subjek Uji Penelitian	26
3.3.1	Populasi Sampel	26
3.3.2	Sampel Penelitian	26
3.3.3	Kriteria Inklusi.....	26
3.3.4	Kriteria Eksklusi	27
3.3.5	Kriteria Drop Out.....	27
3.4	Alat dan Bahan	27
3.4.1	Alat.....	27
3.4.2	Bahan	28
3.5	Cara Penelitian	28
3.5.1	Pengajuan Ethical Clearence	28

3.5.2	Cara Pembuatan Serbuk Kunir Putih	29
3.5.2.1	Pembuatan Ekstrak Kunir Putih.....	29
3.5.3	Pembuatan Streptozotocin – Niacinamide	29
3.5.4	Dosis Penelitian	29
3.5.4.1	Penetapan Dosis Ekstrak Kunir Putih	29
3.5.4.2	Penetapan Dosis Streptozotocin-Niacinamide.....	30
3.5.5	Pemberian Perlakuan	30
3.5.6	Cara Pengambilan Darah.....	30
3.5.7	Cara Pemeriksaan Kadar Bilirubin	31
3.6	Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.6.1	Tempat Penelitian	31
3.6.2	Waktu Penelitian.....	31
3.7	Alur Penelitian	32
3.8	Analisis Data	33
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		34
4.1	Hasil Penelitian.....	34
4.2	Pembahasan Hasil.....	37
BAB V KESIMPULAN.....		42
5.1	Kesimpulan.....	42
5.2	Saran	43
DAFTAR PUSTAKA		44
LAMPIRAN		47

DAFTAR SINGKATAN



AGE	: <i>Advanced Glycation End-production</i>
aHSC	: <i>Activated Hepatic Stellate Cells</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
HOs	: <i>Heme Oksigenase</i>
IDF	: <i>International Diabetes Federation</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1β</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-8	: <i>Interleukin-8</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MOAT	: <i>Multispesific Organic Anion Transporter</i>
MRP-2	: <i>Multidrug Resistance-Like Protein-2</i>
NAFLD	: <i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NAPDH	: <i>Nikotinamida Adenin Dinukleotida</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-kappaβ</i>
PARP	: <i>ADP-Ribose Polymerase</i>
RES	: <i>Reticuloendothelial System</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
STZ	: <i>Streptozotocin</i>
TGF- β 1	: <i>Transforming Growth Factor-β1</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRPM2	: <i>Transient Receptor Potensial Melastatin-2</i>

UDP-GT : *Uridin Difosfat Glucoroncyl Transferase*

WHO : *World Health Organization*

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil analisis kadar bilirubin total antar kelompok.....	36
Tabel 4.2	Hasil Analisis Kadar Bilirubin antar Dua Kelompok	37



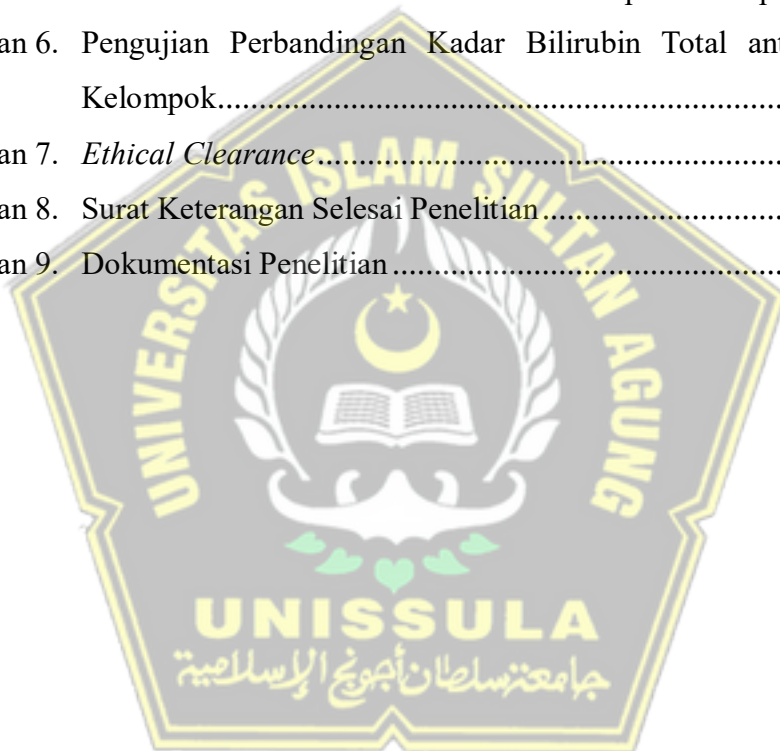
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Metabolisme Bilirubin	8
Gambar 2.2	Tanaman Kunir Putih (<i>Curcuma zedoaria</i>).....	13
Gambar 2.3	Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Wistar (Akbar, 2010)	18
Gambar 2.4	Kerangka Teori	23
Gambar 2.5	Kerangka Konsep.....	24
Gambar 3.1	Alur Penelitian.....	32
Gambar 4.1	Rerata kadar GDS antara tikus normal dan model DM	34
Gambar 4.2	Rerata kadar bilirubin total antar kelompok.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rerata Kadar GDS antara Kelompok Normal dan DM	47
Lampiran 2. Uji Deskripsi Kadar Bilirubin antar Kelompok	48
Lampiran 3. Hasil Analisis Normalitas Kadar Bilirubin antar Kelompok	49
Lampiran 4. Hasil Analisi Non-parametrik <i>Kruskal-Wallis</i>	50
Lampiran 5. Hasil Analisis Kadar Bilirubin antar Keempat Kelompok	51
Lampiran 6. Pengujian Perbandingan Kadar Bilirubin Total antar Dua Kelompok.....	52
Lampiran 7. <i>Ethical Clearance</i>	55
Lampiran 8. Surat Keterangan Selesai Penelitian.....	58
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian	60



INTISARI

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang dapat meningkatkan kadar glukosa darah. DM kronis dapat mengakibatkan komplikasi kerusakan pada hepar yang ditandai dengan kenaikan kadar bilirubin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kunir putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap kadar bilirubin.

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Group Design*. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui vena optalmikus pada 28 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok. Data hasil presentase penurunan kadar bilirubin dari tiap kelompok dianalisis menggunakan *Mann Whitney Test* ($p < 0,005$).

Hasil penelitian kelompok yang diberikan ekstrak kunir putih dosis 9 mg/200gBB mengalami penurunan hingga $0,89 \pm 0,07$ mg/dl dan dosis 18 mg/200gBB menurun hingga $0,58 \pm 0,10$ mg/dl.

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kunir putih berpengaruh terhadap penurunan kadar bilirubin pada tikus model diabetes melitus.

Kata Kunci: Diabetes Melitus; Kunir Putih (*Curcuma zedoaria*); Kadar Bilirubin

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Masalah kesehatan yang dianggap masih mengancam Indonesia bahkan dunia yaitu Diabetes Melitus (DM). Penyakit DM ini merupakan penyakit gangguan metabolik dengan adanya tanda kadar glukosa yang naik biasa dinamakan hiperglikemia (Widiasari, 2021). *International Diabetes Federation* (IDF) Diabetes Atlas edisi 9 menuliskan pada tahun 2019 ada 463 juta orang di dunia yang menderita diabetes pada kelompok usia 20-79 tahun atau sama dengan 9,3% dari jumlah total penduduk pada kelompok usia tersebut. Prevalensi DM di Indonesia diperkirakan naik dari 5,7% (2007) menjadi 6,9% (2013) yang menjadikan Indonesia menduduki peringkat 7 dari 10 negara dengan jumlah penderita DM tertinggi di wilayah Asia Tenggara (Ghasemi & Rezaee, 2014). Jika DM tidak tertangani dengan baik menyebabkan inflamasi jaringan dan mengaktifasi *reactive oxygen species* (ROS). Inflamasi kronis akan berujung pada kerusakan hepar (Maulana Malik, 2021). Proses kerusakan hepar diperantarai sitokin proinflamasi, seperti *transforming growth factor-β1* (TGF-β1), interleukin-18 (IL-18), tumor *necrosis factor-α* (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6), dan peningkatan makrofag serta leukosit (Zheng, 2018). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kunir putih mengandung kurkumin yang berpotensi menurunkan kadar glukosa darah serta memiliki sifat antiinflamasi dan

antioksidan. Namun, pengaruh kunir putih terhadap penanda kerusakan hati masih terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut (Zheng, 2018).

Diabetes melitus merupakan penyakit yang salah satunya tidak menular (PTM) dengan prevalensi yang tinggi di seluruh dunia. Berdasar pada data dari *World Health Organization* (WHO), pada tahun 2019 terdapat 382 juta orang yang menderita diabetes melitus secara global. Riset kesehatan pada tahun 2018 menunjukkan bahwa prevalensi diabetes melitus di Indonesia untuk usia di atas 15 tahun adalah 2%, meningkat dibandingkan dengan 1,5% pada riset yang dilakukan pada tahun 2013. Diabetes yang berlangsung lama dapat merusak hati, menyebabkan penumpukan trigliserida yang mengarah pada stres oksidatif dan terjadinya perlemakan hati, yang dikenal sebagai *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD). NAFLD ini dapat memperburuk kerusakan hati melalui proses inflamasi, nekrosis, dan fibrosis. Kerusakan hati ini dapat dikenali dari penurunan kadar bilirubin (Cheriyath, 2010).

Kunir putih (*Curcuma zedoaria*) yaitu jenis tanaman herbal yang telah lama dipergunakan dalam pengobatan tradisional dan mengandung kurkumin serta flavonoid. Penelitian oleh Wardhani (2021) memperoleh hasil dimana secara signifikan kadar gula darah menjadi berkurang sehubungan dengan adanya pemberian ekstrak kunir putih dengan dosis 400 mg/kgBB. Kurkumin yang terdapat dalam kunir putih terbukti bermanfaat untuk mengatasi kondisi inflamasi, sindrom metabolik, dan nyeri. Senyawa fenolik dalam kurkumin dapat bereaksi dengan ROS, sehingga melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif (Gani, 2021). Penelitian sebelumnya tentang kurkumin menunjukkan dampaknya terhadap

tingkat fibrosis hati dan *Nuclear Factor-kappa Beta* (NF- κ B). Kurkumin juga berfungsi sebagai penghambat NF- κ B, yang berperan dalam regulasi ekspresi siklooksigenase (COX-2). Apoptosis pada miofibroblas hati bisa meningkat dengan adanya penghambatan NF- κ B caranya dengan mengurangi ekspresi *c-Jun N-terminal kinases* (JNK), dan hal itu akan membuat fibrosis menjadi berkurang. Adanya pemberian kurkumin memberi pengaruh pada tingkat fibrosis hati serta kadar NF- κ B hingga 74,1% (Supriono, 2018). Selain itu, kurkumin juga menurunkan kemampuan *activated hepatic stellate cells* (aHSC) untuk bertahan, memperbaiki kerusakan hati, dan mengatur kadar bilirubin. Menurut penelitian sebelumnya, kurkumin bersifat hepatoprotektif dengan cara menghambat transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2), memulihkan Ca²⁺, mengurangi stres oksidatif, dan menurunkan NASH (Supriono, 2018).

Kandungan kurkumin pada kunir putih sebagai antiinflamasi dengan menghambat NF- κ B sehingga berpotensi untuk perbaikan sel hepar akibat diabetes melitus. Kunir putih berpotensi sebagai antiinflamasi dengan perbaikan kadar bilirubin untuk mengembalikan kerusakan oksidatif hepar pada diabetes belum banyak dilakukan penelitian (Cheriyath, 2010). Berdasarkan uraian yang sudah tertulis diatas, kandungan yang terdapat pada kunir putih, antara lain kurkumin dinilai berpotensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi pada penderita diabetes melitus yang dapat dimanfaatkan untuk menurunkan prevalensi kejadian diabetes melitus serta dapat mengembalikan jumlah bilirubin pada kerusakan yang terjadi di jaringan hepar pada penderita diabetes melitus.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak kunir putih (*Curcuma zedoaria*) berpengaruh terhadap kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model diabetes melitus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak kunir putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model diabetes melitus.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Untuk mengetahui rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar yang mendapat diet pakan standar.

1.3.2.2 Untuk mengetahui rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model diabetes melitus.

1.3.2.3 Untuk mengetahui rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model diabetes melitus yang mendapatkan ekstrak kunir putih 9 mg/200gBB tikus.

1.3.2.4 Untuk mengetahui rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model diabetes melitus yang mendapatkan ekstrak kunir putih 18 mg/200gBB tikus.

1.3.2.5 Untuk mengetahui dan menganalisis perbedaan kadar bilirubin antar kelompok penelitian.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Untuk menambah pengetahuan mengenai pengaruh pemberian ekstrak kunir putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model diabetes melitus.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini dengan hasil yang diharapkan bisa memberikan informasi bagi masyarakat mengenai manfaat ekstrak kunir putih yang dapat berperan sebagai antiinflamasi serta antidiabetes untuk mengatasi komplikasi akibat inflamasi pada penderita diabetes melitus.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bilirubin

2.1.1 Definisi Bilirubin

Bilirubin yaitu produk akhir dari proses degradasi heme oleh heme oksigenase (HOs). Pada konsentrasi rendah, bilirubin berperan sebagai antioksidan endogen. Bilirubin terbukti memiliki efek antioksidan dengan menangkap *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menghambat aktivitas oksigenase nikotinamida adenin dinukleotida fosfat (NAPDH), sehingga dapat menurunkan stres oksidatif. Maka dari itu, kadar bilirubin serum fisiologis yang lebih tinggi memiliki efek proteksi yang baik terhadap penyakit metabolik (Maruhashi, et al., 2019).

2.1.2 Karakteristik Bilirubin

Nilai normal dari bilirubin bisa diukur dengan serum. Nilai normal bilirubin pada tikus normal, yaitu 0,3-1,3 mg/dl ($0,72 \pm 0,29$ mg/dl) (Arifah, 2018). Sedangkan kadar normal bilirubin total pada orang dewasa yaitu 0,1-1,2 mg/dl. Terjadinya peningkatan bilirubin bisa terjadi pada kasus sirosis terdekompensasi dan hepatitis, baik itu kadar bilirubin direk ataupun indirek (Joyce, 2008).

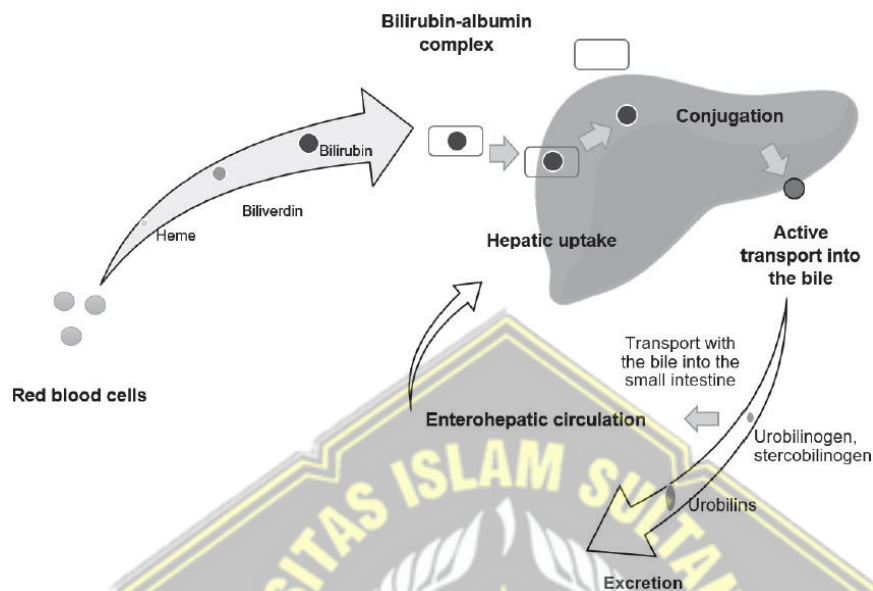
2.1.3 Metabolisme Bilirubin

Eritrosit yang berusia 120 hari akan menjadi heme dan globin sebab mengalami perombakan hemoglobin. Selanjutnya untuk globin akan menjadi asam amino yang dimetabolisme kembali, sedangkan heme akan didegradasi menjadi biliverdin, karbon monoksida dan zat besi. Biliverdin akan dimetabolisme melalui

reaksi reduksi-oksidasi sehingga membentuk senyawa pigmen kristal yang disebut bilirubin. Bilirubin melalui proses konjugasi di retikulum endoplasma sel hepatosit akan disalurkan melalui sistem bilier (Muchova, 2016).

Metabolisme bilirubin sebelum masuk ke hepar terjadi pada *Reticuloendothelial system* (RES) dibantu beberapa enzim, seperti enzim heme oksigenase dengan penambahan oksigen sehingga terbentuk karbon monoksida dan biliverdin. Enzim lain, seperti *biliverdin reductase* akan mengubah biliverdin menjadi bilirubin yang belum terkonjugasi (*indirect bilirubin*). Bilirubin yang belum terkonjugasi dari plasma akan dibawa oleh protein albumin dalam bentuk ikatan non kovalen menuju sel hepatosit. Lemahnya afinitas ikatan non kovalen akibat jumlah bilirubin yang meningkat menyebabkan lepasnya ikatan tersebut sehingga berdifusi ke dalam jaringan. Bilirubin akan masuk ke hepar melalui difusi terfasilitasi transmembran akan dilarutkan sementara dengan mengikat protein Y dan protein Z untuk mencegah terjadinya *reflux* ke plasma. Konjugasi indirect bilirubin menjadi direct bilirubin terjadi dalam retikulum dibantu dengan katalisator enzim uridin difosfat *glucoroncyl transferase* (UDP-GT) tipe 1. Direct bilirubin akan bercampur dengan cairan empedu yang terdiri dari asam empedu, fosfolipid dan kolesterol. Sekresi terjadi melalui sistem biliaris dibantu oleh *multispecific organic anion transporter* (MOAT) serta *multidrug resistance-like protein 2* (MRP-2). Proses dekonjugasi bilirubin dibantu enzim *beta glukoronidase* menjadi urobilinogen ketika sampai di sistem pencernaan. sekitar 20% urobilinogen direabsorpsi ke pembuluh darah untuk kembali ke hepar dan sisanya akan diubah menjadi urobilin dengan cara oksidasi yang dibantu flora normal pada usus dan

keluar bersamaan dengan feses. Jumlah urobilinogen berlebihan akan disekresi melalui urin (Muchova, 2016).



Gambar 2.1 Metabolisme Bilirubin (Muchova, 2016).

2.1.4 Metode Pemeriksaan Bilirubin

Beberapa metode yang dipergunakan dalam pemeriksaan bilirubin diantaranya:

1. Metode Jendrasik- Grof

Prinsip dari metode ini adalah bahwa bilirubin bereaksi dengan DSA (asam sulfanilik diazotasi) untuk membentuk senyawa azo berwarna merah. Penyerapan warna dari senyawa ini dapat diukur pada panjang gelombang 546 nm saat memeriksa sampel. Selanjutnya untuk bilirubin glukuronida yang telah larut dalam air bisa bereaksi dengan DSA, sementara bilirubin terkonjugasi akan bisa bereaksi apabila ditambahkan akselerator.

2. Metode Colorimetric Test - Dichloroaniline (DCA)

Prinsip dari metode ini adalah bahwa total bilirubin bereaksi dengan dichloroaniline terdiazotisasi, menghasilkan senyawa azo berwarna merah dalam larutan asam. Penambahan campuran khusus (detergen enables) dapat mempermudah pemeriksaan kadar total bilirubin (Hardjono, 2003).

2.1.5 Faktor yang Memengaruhi Kadar Bilirubin

Pemeriksaan kadar bilirubin sangat bergantung pada faktor eksternal dan internal yang dapat berpengaruh terhadap keadaan spesimen. Faktor-faktor yang perlu diperhatikan, meliputi:

1. Faktor Eksternal

a. Cahaya

Konsentrasi bilirubin dipengaruhi oleh cahaya dari lampu atau matahari yang akan berakibat konsentrasi dalam serum menjadi turun. Sampel serum atau plasma heparin yang akan digunakan dalam pemeriksaan harus terjaga dari paparan matahari agar tidak terjadi hemolisis. Paparan cahaya matahari langsung akan menurunkan konsentrasi bilirubin sebesar 50% dalam 1 jam. Sampel yang akan digunakan selama pemeriksaan sebaiknya ditempatkan dalam botol yang terbungkus rapat menggunakan aluminium foil atau kertas dan pemeriksaan sebaiknya dilakukan dalam ruangan sedikit cahaya serta suhu rendah untuk menjaga kestabilan serum hingga 3 jam (Hardjono, 2003).

b. Suhu

Suhu merupakan faktor penting dalam pemeriksaan kadar bilirubin, karena suhu rendah dapat mempertahankan kestabilan serum, sementara

suhu yang terlalu tinggi dapat merusak komponen dalam serum. Menurut reagen Ecoline Diagnostik, serum dapat disimpan dengan stabil pada suhu 15-25°C selama satu hari, pada 2-8°C selama tujuh hari, dan pada -20°C selama tiga bulan (Hardjono, 2003).

c. Waktu penyimpanan

Penyimpanan yang terlalu lama dapat mengurangi kualitas kadar bilirubin. Waktu penyimpanan serum yang disarankan adalah 24 jam pada suhu 20-25°C, selama 7 hari pada suhu 2-8°C, dan selama 3 bulan pada suhu -20°C (Hardjono, 2003).

d. Tabung penyimpanan

Tabung yaitu sebuah tempat penampung sampel untuk mempermudah pelaksanaan pemeriksaan. Tabung vakum dengan tutup merah menjadi jenis tabung yang biasa dipergunakan di rumah sakit. Ini menjadi tabung tanpa pemberian additive untuk bekuan darah (Joyce, 2008).

2. Faktor internal

Kadar bilirubin dipengaruhi faktor di bawah ini:

a. Hemolisis

Hemolisis dapat terjadi akibat infeksi, infeksi intrauterine, polisitemia, meningitis, trauma lahir, extravasasi sel darah merah, sepsis, sumbatan traktus digestif, dan hipoksia atau asfiksia yang menjadikan sirkulasi enterohepatik meningkat (Joyce, 2008).

b. Ikterik

Akibat ikterik obstruktif karena batu berpengaruh pada peningkatan kadar bilirubin total dan direk. Selain diakibatkan penyakit juga bisa diakibatkan pemakaian obat, contohnya antibiotik (tetrasiklin, oksasilin, linkomisin, gentamisin, eritromisin, klindamisin, amfoterisin B), obat anti tuberculosis (isoniazid, asam paraaminosalisilat), alupurinol, sulfonamide, diuretic (asetazolamid, asametakrinat), dekstran, mitramisis, barbiturate, diazepam (valium), flurazepam, narkotik (meperidine, kodein, morfin), metotreksat, metildopa, indometasin, prokainamid, papaverin, kontrasepsi oral, steroid, torbutamid, dan vitamin A, C, K. Sementara kadar dari bilirubin total dan direct yang turun bisa dikarenakan pengaruh obat (penisilin, salisilat (aspirin), dan barbiturate), kafein dosis tinggi, dan defisiensi besi (Joyce, 2008).

2.2 Kunir Putih

2.2.1 Taksonomi Kunir Putih

Data penelitian yang dilakukan (Elfianis, 2022), taksonomi kunir putih sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Kingdom	: <i>Viridiplantae</i>
Infra Kingdom	: <i>Streptophyta</i>
Super Divisi	: <i>Embryophyta</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Spermatophytina</i>

Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Super Ordo	: <i>Lilianae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Curcuma L.</i>
Spesies	: <i>Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe</i>

2.2.2 Morfologi Kunir Putih

Kunir putih merupakan tanaman yang digunakan sebagai obat. Kunir putih dapat tumbuh di tanah lembab yaitu pada ketinggian sekitar 0-1.000 mdpl. Tumbuhan ini ditemukan dalam jumlah banyak di Indonesia terutama di daerah Jawa tengah, Sumatra, Jawa Barat, Irian dan Ambon. Tanaman kunir putih dapat tumbuh setinggi 2 meter. Batang kunir putih berupa batang semu yang terbentuk dari pelepah daun yang tumbuh pada rimpangnya. Daun kunir putih merupakan daun tunggal yang memiliki tangkai panjang. Pangkal dan ujung daun berbentuk runcing namun rata, helaian daunnya bulat memanjang, serta pertulangannya menyirip yang memiliki lebar 8-15 cm dan juga panjang 25-70 cm. Akar tanaman kunir putih berbentuk serabut. Tanaman kunir putih memiliki rasa pedas, pahit dan tajam.



Gambar 2.2 Tanaman Kunir Putih (*Curcuma zedoaria*) (Safitri, 2022)

2.2.3 Kandungan Kunir Putih

Kunir putih merupakan tanaman dengan famili *Zingiberaceae*. Tanaman ini dijadikan sebagai obat herbal yang banyak ditemui di Asia, salah satunya Indonesia. Penelitian Maflikha (2014) menuliskan bahwa kunir putih memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari kurkuminoid, flavonoid, alkaloid dan tannin yang memiliki fungsi sebagai antimikroba, antifungal, antialergi, antioksidan dan analgesik dengan mekanisme penghambatan yang spesifik (Maflikha, 2014). Penelitian lain yang dilakukan Elfira (2010) menyebutkan bahwa senyawa lain juga terdapat dalam kunir putih, seperti tannin, glikosida, triterpenoid dan alkaloid (Suriyawati, 2018).

2.2.4 Potensi Kandungan Kunir Putih

Kunir putih memiliki potensi sebagai antikanker, antioksidan, antifungal, antialergi dan analgetik. Kunir putih bisa membantu penyembuhan kanker sebab memiliki senyawa flavonoid, kurkuminoid, dan *demothxycurcumin* dari ekstrak ethanol. Kunir putih juga memiliki kandungan *Ribosome Inacting Protein* (IRP)

yang berperan untuk penghambat pertumbuhan sel kanker serta menonaktifkan perkembangan sel kanker. Kunir putih juga memiliki antioksidan alami berupa *diferuloylmethane* yang berasal dari minyak esensial rimpangnya. Kandungan kurkumin dan flavonoid pada kunir putih juga berpotensi sebagai antifungal dan antialergi yang berperan sebagai antiplasmodial. Peran analgetik pada kunir putih didapatkan dari kandungan steroid dan kurkumenol dari proses ekstraksi (Miflikha, 2014).

2.3 Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus

2.3.1 Induksi Streptozotocin dan Niacinamide

Pembuatan tikus model Diabetes Melitus (DM) ini dengan mempergunakan induksi STZ dan NA. *Streptozotocin* (STZ) penelitian ini bisa menyebabkan hiperglikemia yang mengakibatkan metilasi DNA ke sel β pancreas, oleh karena itu akan terjadi fragmentasi DNA dan kemudian akan menimbulkan overstimulasi enzim ADP-ribose polymerase PARP, yakni enzim untuk *repair* DNA. Overstimulasi PARP ini bisa menimbulkan deplesi NAD^+ disertai deplesi ATP. Kemudian terjadinya Deplesi ATP bisa mengakibatkan kematian sel karena proses pemecahan sel. Proses hiperglikemia diawali dengan deplesi ATP yang menurunkan aktivitas pompa natrium (Na^+ pump), oleh karena itu natrium bisa terakumulasi dalam sel. Natrium dalam hal ini berkemampuan menarik air (H_2O) ke dalam sel, dan bisa memperbesar ukuran sel (*swelling*) dan lebih lanjut sel akan pecah sehingga terjadi kematian sel. Selain STZ, hiperglikemia dapat terjadi dengan induksi *niacinamide* (NA) pada tikus putih 15 menit sebelum pemberian STZ dengan tujuan supaya sel β pankreas tidak sepenuhnya mati akibat pemberian STZ.

Fungsi dari niacinaide yaitu sebagai penghambat aktivitas enzim PARP, oleh karenanya bisa mengurangi deplesi ATP dan deplesi NAD⁺. Penghambatan enzim PARP berpotensi untuk membatasi jumlah kematian pada sel β pankreas. Kombinasi dari STZ dan NA sudah umum dipakai untuk penginduksi dalam proses membuat tikus model DM tipe 2 pada hewan coba (Muthmainah, 2021).

2.3.2 Komplikasi Diabetes Melitus

DM merupakan sindrom metabolik akibat adanya resistensi insulin. Resistensi insulin merupakan keadaan dimana sel tubuh tidak peka terhadap efek insulin sehingga respon terhadap insulin menjadi turun dan dibutuhkan kadar insulin yang lebih tinggi untuk mengendalikan kadar gula darah serta mencegah ketosis. Resistensi insulin mendasari beberapa kelainan yang dikelompokkan dalam sindroma metabolik, contohnya DM tipe 2 maupun prediabetes, hipertensi dan dislipidemia. Hiperglikemia merusak jaringan lewat beberapa jalur, seperti :

1. Peningkatan aktivitas jalur polyol

Kondisi hiperglikemia, enzim aldose reduktase aktif akan mereduksi glukosa menjadi sorbitol dengan mempergunakan kofaktor berupa Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate (NADPH). Sorbitol dioksidasi oleh enzim sorbitol dehydrogenase menjadi fruktosa oleh Nicotinamide Adenin Dinucleotide (NAD⁺) sebagai kofaktor. Fruktosa akan difosforilasi menjadi fruktosa-3-fosfat yang mengakibatkan pembentukan *Advanced Glycation End-production* (AGE). Pada jalur polyol akan memicu mekanisme stres oksidatif akibat aktivasi NADPH sebagai *regenerasi glutation* (GSH) yang berperan dalam mengikat ROS (Tanuwijaya, 2020).

2. Peningkatan pembentukan AGE intraseluler

AGE merupakan hasil reaksi gugus karbonil reaktif dari gula preduksi (gliseraldehida, glukosa, fruktosa maupun senyawa asetaldehid dan karbonil) dengan gugus amino bebas pada protein. Reaksi ini menghasilkan produk utama berupa basa Schiff yang selanjutnya mengalami dehidrasi, oksidasi dan reaksi kimia lainnya pembentuk senyawa irreversible yang dinamakan dengan AGE. Kecepatan pembentukan AGE bisa mengalami peningkatan pada beberapa kondisi di antaranya hiperlipidemia, hiperglikemia, serta peningkatan stres oksidatif (Tanuwijaya, 2020).

3. Peningkatan ekspresi reseptor AGE

AGE akan berikatan dengan reseptor AGE (RAGE). Ikatan AGE/RAGE menyebabkan aktivasi jalur intrinsik yang meliputi PKC dan MAPK. Aktivasi jalur intrinsik ini akan meningkatkan ekspresi NF- κ B dan EGR-1 sehingga meningkatkan proteolisis dimana terjadi induksi inflamasi, peningkatan kerusakan protein yang teroksidasi, dan meningkatnya aktivitas ROS yang dapat menghambat aktivitas metabolisme seluler (Tanuwijaya, 2020).

Salah satu penyakit hati kronik yang juga didasari resistensi insulin serta sering didapatkan pada penderita DM tipe 2 adalah *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD). Prevalensi keseluruhan NAFLD pada DM tipe 2 sekitar 40-70%. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa inflamasi berat, *hepatocyte ballooning* dan fibrosis lebih tinggi pada penderita DM tipe 2 dengan NAFLD. Penderita DM tipe 2 memiliki deposisi lemak di hati hingga 200 kali lebih dibandingkan kontrol yang telah disesuaikan umur, jenis kelamin, dan indeks

massa tubuh. Deteksi NAFLD terutama yang telah menjadi NASH pada DM tipe 2 perlu dilakukan. Proses DM tipe 2 menjadi NAFLD diawali karena adanya asam lemak bebas yang seharusnya dihantarkan menuju organ hati melalui sirkulasi darah arteri serta porta mengalami sehingga dapat dimetabolisme lebih lanjut mengalami kondisi yang berbeda. Akumulasi jaringan lemak tubuh menjadikan pelepasan asam lemak bebas meningkat, sehingga terakumulasi dalam sel hepar. Penumpukan asam lemak bebas ini akan berakibat terjadinya peningkatan esterifikasi dan oksidasi lemak. Proses peningkatan oksidasi ini terfokus pada mitokondria yang dapat mengakibatkan kerusakan mitokondria itu sendiri. Peningkatan oksidasi akan meningkatkan kejadian stres oksidatif. Stres oksidatif disebabkan resistensi insulin, aktivitas sitokrom P450 2E1 yang meningkat, konsentrasi endotoksin hati yang meningkat, cadangan besi yang meningkat serta aktivitas antioksidan yang menurun. Stres oksidatif berkelanjutan yang tidak terkompensasi akan meningkatkan aktivasi sel stelata dan sitokin proinflamasi sehingga berlanjut pada inflamasi progresif, hepatosit membengkak dan sel ati, bahkan terjadi fibrosis. Pada kondisi NAFLD, stres oksidatif menghambat replikasi dan maturase sel hepatosit. Sel-sel ini dapat berdiferensiasi menjadi *hepatocyte-like cells* yang akan berkorelasi kuat dengan derajat fibrosis. Kondisi NAFLD ini juga berpotensi menjadi karsinoma hepatoseluler (Nusi, 2015).

a. Tikus Putih Jantan Galur Wistar

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering dipergunakan sebagai hewan coba dikarenakan responnya yang baik serta bisa memberi gambaran ilmiah yang dapat terjadi manusia maupun hewan yang lainnya. Tikus putih termasuk hewan nokturnal. Salah satu faktor yang dapat menjaga kondisi tikus selama masa kehidupannya yaitu kelembaban dan temperatur. Kelembaban yang baik bagi tikus putih adalah sekitar 40-70%, sementara temperatur yaitu sekitar 19°C-23° (Wolfenshon, 2013).

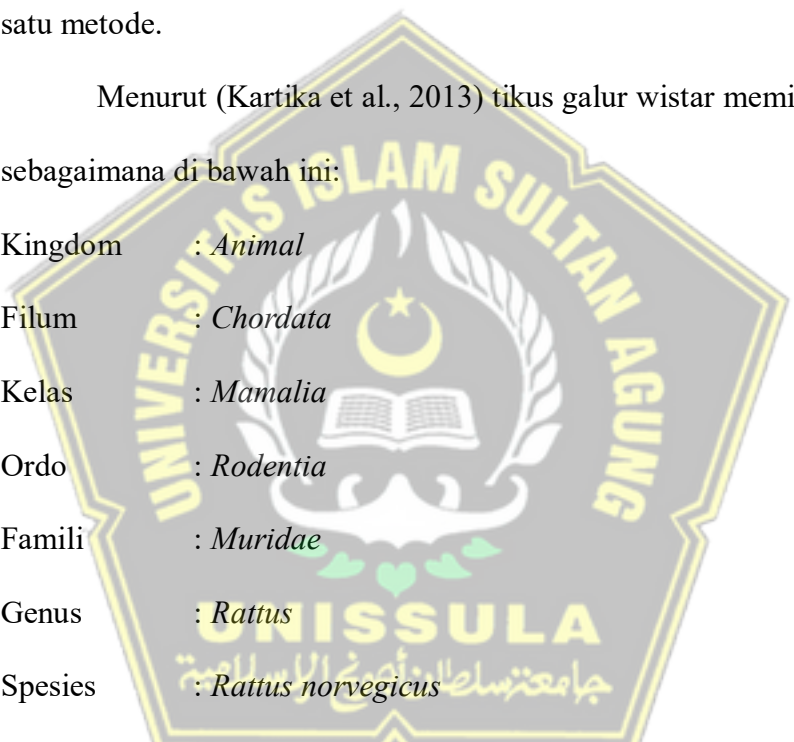
Kelebihan tikus putih untuk menjadi binatang percobaan di antaranya memiliki jaringan tubuh mirip manusia dan bersifat omnivore. Tikus putih galur wistar yang dikembangkan bisa beradaptasi secara mudah dengan lingkungan. Makanan tikus putih memiliki susunan yang terdiri dari karbohidrat 45-5-%, protein 20-25% dan serat 5%. Seekor tikus putih memiliki kebutuhan air minum sekitar 20-45 ml, makan sekitar 12-20 gr, mineral berbentuk besi sekitar 35mg/kg pada setiap hari (Smith, 1998).



Gambar 2.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar (Akbar, 2010)

Penentuan umur tikus putih untuk percobaan dapat dinilai dari berat badan, pertumbuhan gigi geraham, lensa mata, pertumbuhan musculoskeletal seiring dengan penutupan, penghitungan lapisan endosteal di tibia, dan penebalan epifisis. Pada penentuan korelasi umur tikus putih dengan umur manusia adalah metode relatif dan tidak secara pasti dapat menentukan umur absolut, maka peneliti umumnya menggunakan lebih dari satu metode.

Menurut (Kartika et al., 2013) tikus galur wistar memiliki taksnomi sebagaimana di bawah ini:



Kingdom	: <i>Animal</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

- b. Hubungan Ekstrak Kunir Putih dengan Kadar Bilirubin pada Tikus DM yang Diinduksi dengan Streptozotocin dan Niacinamide

Tikus yang diinduksi dengan STZ dan NA akan mengalami hiperglikemia. Hiperglikemia akan berpengaruh pada kerusakan sel β pankreas sebagai penghasil kadar insulin melalui jalur GLUT-2. Kadar insulin yang disekresi sel β pankreas berperan sebagai pengatur kadar glukosa dalam darah. Kombinasi kedua diabetogenik STZ dan NA akan

membuat tikus menjadi DM tipe 2. Hiperglikemia yang berlanjut akan mengakibatkan adanya komplikasi melalui beberapa jalur, seperti jalur Poliol-Sorbitol, MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), dan PKC (*Protein Kinase – C*) (Tanuwijaya, 2020).

Hiperglikemia akan mengakibatkan kerusakan jaringan melalui jalur Poliol-Sorbitol. Jalur Poliol-Sorbitol mengaktivasi enzim aldose reduktasi untuk mengubah glukosa menjadi sorbitol oleh NADPH sebagai kofaktor. Oksidasi sorbitol oleh enzim *sorbitol dehydrogenase* mempergunakan NAD⁺ menjadi fruktosa. Fruktosa ini akan difosforilasi menjadi fruktosa-3-phospat yang menghasilkan *Advanced Glycation End-production* (AGE) dan reseptor AGE (RAGE) yang akan memicu stres oksidatif yang diakibatkan oleh NADPH oleh kebutuhan glukosa untuk *regenerasi glutation* (GSH) sebagai antioksidan pengikat ROS yang berakibat kerusakan DNA dan membran mitokondria (Tanuwijaya, 2020).

Hiperglikemia juga dapat mengaktivasi PKC yang akan meningkatkan jalur intrinsik NF- κ B. Aktivasi NF- κ B mengakibatkan peningkatan ekspresi enzim NADPH sehingga meningkatkan produksi superoksida. Superoksida dalam jumlah besar yang disertai peningkatan *nitric oxide* (NO) akan membentuk oksidan peroksinitrit. Mekanisme PKC menyebabkan proteolisis dengan peningkatan jumlah protein yang teroksidasi, ROS yang meningkat, induksi inflamasi, serta berpengaruh terhadap kegiatan metabolisme seluler (Tanuwijaya, 2020).

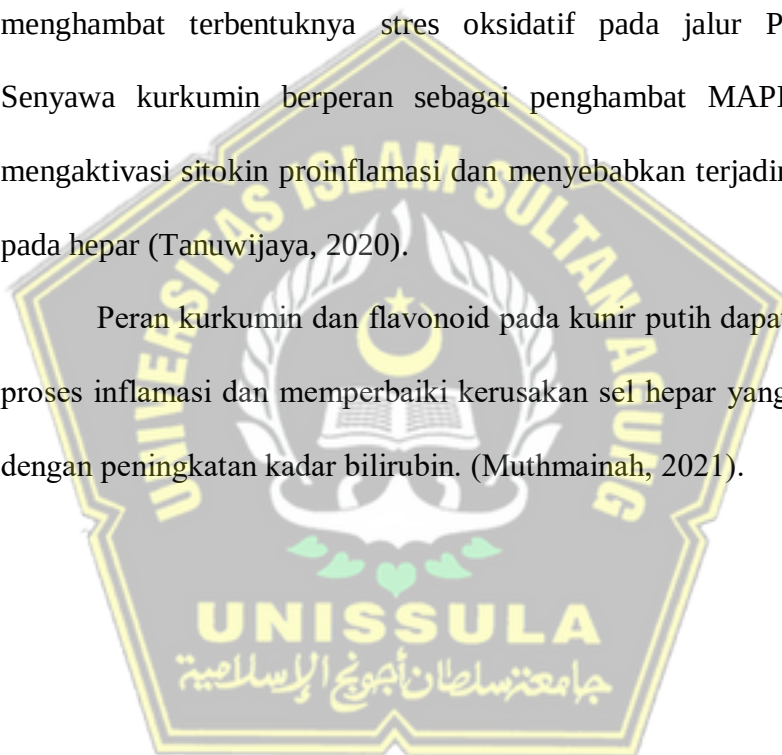
Hiperglikemia juga akan mengaktivasi MAPK sehingga meningkatkan proses inflamasi melalui sitokin proinflamasi, seperti interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-18 (IL-18), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), dan *transforming growth factor- β 1* (TGF- β 1) dan MCP-1. TNF- α merupakan mediator proinflamasi yang bekerja pada jaringan adiposa yang dapat mengakibatkan resistensi insulin melalui autofosforilasi dari reseptor insulin yang berakibat penurunan GLUT, *inhibitor insulin receptor tyrosine kinase activity* serta meningkatkan sirkulasi lemak. TNF- α yang diproduksi berlebihan pada jaringan adiposa menunjang terjadinya inflamasi yang berakibat pada kematian sel hepatosit dan fibrosis hepar (Tanuwijaya, 2020).

Hiperglikemia juga dapat mengakibatkan kerusakan hepar melalui aktivasi ketiga jalur, Poliol-Sorbitol, PKC dan MAPK berakibat pada peningkatan stres oksidatif. Aktivasi setiap jalur akan memicu peningkatan sitokin proinflamasi, proteolysis serta produksi ROS yang mengakibatkan kerusakan DNA dan juga membran mitokondria sehingga terjadi kematian sel hepatosit, inflamasi dan fibrosis hepar. Aktivasi ketiga jalur tersebut yang berkepanjangan akan memicu kerusakan DNA pada mitokondria sehingga berpengaruh pada proses cedera hepar yang dapat ditandai dengan adanya penurunan kadar bilirubin (Gani, 2021).

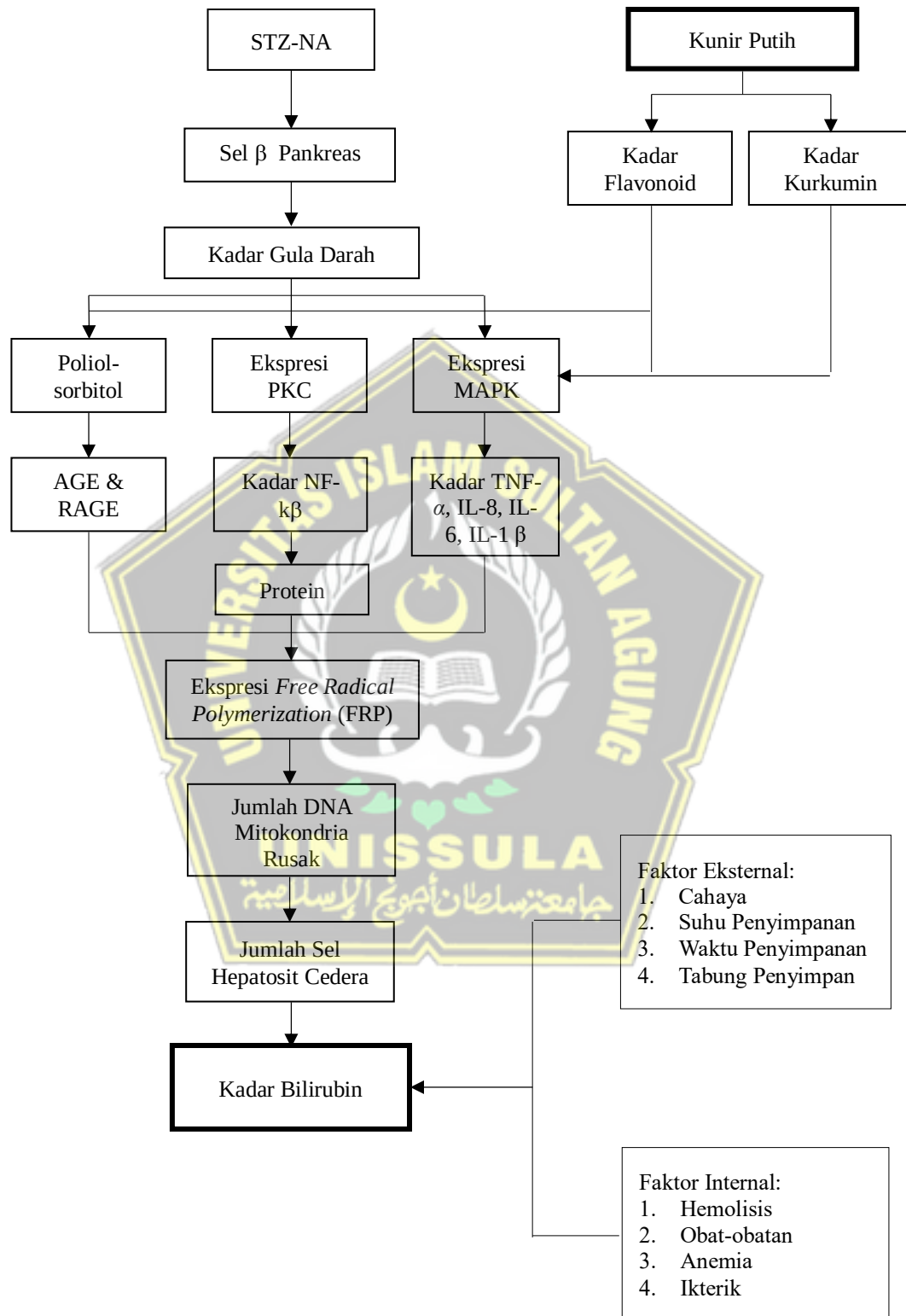
Kunir putih adalah salah satu tanaman obat yang berpotensi dapat memperbaiki keadaan kerusakan hepar yang ditandai dengan penurunan kadar bilirubin. Kunir putih mengandung senyawa kurkumin dan flavonoid.

Kandungan kurkumin dan flavonoid akan melindungi sel hepar yang masih hidup dan menjadi antioksidan tambahan untuk membantu proses melawan sitokin proinflamasi. Flavonoid sebagai antiinflamasi dan antioksidan melalui jalur MAPK berperan sebagai promotor apoptosis sel sehingga mencegah kerusakan DNA. Flavonoid juga memblokir jalur PKC yang menghasilkan NF- κ B untuk mencegah kerusakan hepar serta akan menghambat terbentuknya stres oksidatif pada jalur Poliol-Sorbitol. Senyawa kurkumin berperan sebagai penghambat MAPK yang akan mengaktivasi sitokin proinflamasi dan menyebabkan terjadinya kerusakan pada hepar (Tanuwijaya, 2020).

Peran kurkumin dan flavonoid pada kunir putih dapat menghambat proses inflamasi dan memperbaiki kerusakan sel hepar yang dapat diukur dengan peningkatan kadar bilirubin. (Muthmainah, 2021).

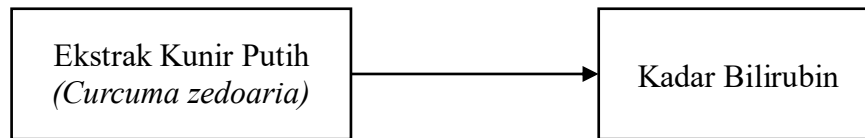


2.4 Kerangka Teori



Gambar 2.4 Kerangka Teori

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

2.6 Hipotesis

Ekstrak kunir putih (*Curcuma zedoaria*) berpengaruh terhadap kadar bilirubin pada tikus jantan galur wistar model diabetes melitus.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental adalah jenis penelitian ini dengan menggunakan rancangan penelitian *post test only group design*.

3.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variabel Bebas

Ekstrak Kunir putih (*Curcuma zedoaria*).

3.2.1.2 Variabel Tergantung

Kadar Bilirubin.

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Kunir Putih

Kunir putih dapat diperoleh dari proses ekstraksi dengan pelarut etanol 97% kemudian akan diberikan dengan peroral ke hewan coba menggunakan sonde.

Skala data : Ordinal

3.2.2.2 Kadar Bilirubin

Kadar bilirubin akan didapatkan dari tikus putih jantan galur *Wistar*. Serum diambil pada hari ke 11 setelah perlakuan dengan satuan mg/dL. Penilaian kadar bilirubin dengan metode ELISA.

Skala : Rasio

3.3 Subjek Uji Penelitian

3.3.1 Populasi Sampel

Tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang akan dipelihara di Laboratorium Gizi PSGD UGM dijadikan sebagai populasi penelitian ini.

3.3.2 Sampel Penelitian

Pengambilan sampel penelitian secara acak melalui pedoman *World Health Organization* (WHO) terkait penetapan jumlah sampel, yaitu 5 ekor tikus setiap kelompok dengan rumus di bawah ini:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(3n-3) \geq 15$$

$$n \geq 18/3$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t = Jumlah kelompok perlakuan

n = Jumlah subjek perkelompok

Setiap kelompok tikus putih jantan galur wistar yang digunakan 6 sampel, maka dari itu jumlah sampel penelitian adalah 24 ekor tikus. Cadangan 1 ekor tiap kelompok, sehingga tiap kelompok berisikan 7 ekor tikus.

3.3.3 Kriteria Inklusi

1. Usia : 2 bulan
2. Berat Badan : 150 - 200 gram

3.3.4 Kriteria Eksklusi

1. Pernah digunakan untuk eksperimen lain
2. Memiliki kelainan anatomis
3. Terdapat luka maupun cacat
4. Tikus yang GDS < 200 mg/dl setelah diinduksi STZ-NA

3.3.5 Kriteria Drop Out

Tikus mati atau sakit selama penelitian

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat penelitian ini, di antaranya:

1. Kandang tikus lengkap dengan tempat pakan dan minum
2. Timbangan analitik
3. Timbangan tikus
4. Plat aluminium
5. *Moisture balance*
6. Pinset dan kuas
7. *Rotatory evaporator*
8. *Water bath*
9. *Oven memmert*
10. *Drying oven*
11. Sonde oral
12. Spuit 1cc dan 3cc
13. Mikropipet

14. Mikrohematokrit
15. Mikrotube 1,5ml
16. *Polymerase tube*
17. Kertas saring
18. Alat-alat gelas laboratorium (gelas ukur, gelas beker, dll)
19. Spektrofotometer ELISA
20. *ELISA Kit reader*

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian sebagai berikut:

1. Hewan coba
2. Pakan standar
3. Sampel darah
4. Streptozotocin
5. Niasinamide
6. Reagen Bilirubin
7. *Aquades*
8. Ekstrak kunir putih yang sudah dibuat dan siap digunakan

3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Pengajuan Ethical Clearence

Ethical clearance penelitian diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.5.2 Cara Pembuatan Serbuk Kunir Putih

3.5.2.1 Pembuatan Ekstrak Kunir Putih

Proses pembuatan ekstrak kunir putih melalui maserasi. Masing-masing bubuk kunir putih ditimbang sebanyak 300 gram, dilarutkan dengan 1.500 ml pelarut etanol 96% serta dimasukkan ke erlenmeyer 2 liter. Selanjutnya dilakukan maserasi terhadap campuran pelarut dengan serbuk kunir putih dalam waktu 5x24 jam. Larutan selanjutnya dilakukan evaporasi dengan *rotatory evaporator* guna menguapkan pelarut yang bercampur bahan ketika ekstraksi berlangsung.

3.5.3 Pembuatan Streptozotocin – Niacinamide

Streptozotocin ditimbang dan dilarutkan menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,9% kemudian diinduksikan pada tikus melalui intraperitoneal.

3.5.4 Dosis Penelitian

3.5.4.1 Penetapan Dosis Ekstrak Kunir Putih

Berikut jumlah besaran dosis ekstrak kunir putih yang diberikan pada hewan coba:

1. Besaran dosis ekstrak kunir putih pertama 500mg/kgBB/hari
 - a. Faktor Konversi 0,018 gram
 - b. Hitung dosis $500 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 = 9 \text{ mg/200gBB}$
2. Besaran dosis ekstrak kunir putih kedua 1.000 mg/kgBB/hari
 - a. Faktor konversi 0,018 gram
 - b. Hitung dosis $1.000 \text{ mg/kgBB} \times 0,018 \text{ gram} = 18 \text{ mg/200gBB}$

3.5.4.2 Penetapan Dosis Streptozotocin-Niacinamide

Pemberian induksi NA bertujuan untuk menghindari tikus menjadi DM tipe

1. Pemberian STZ diberikan setelah 15 menit dari pemberian NA, dengan dosis yang ditetapkan berdasarkan penelitian sebelumnya. Pemberian induksi NA dilakukan dengan dosis sebanyak 120 mg/kgBB dan dilanjutkan pemberian STZ sebanyak 60 mg/kgBB (Jung *et al.*, 2022).

3.5.5 Pemberian Perlakuan

- K1: Kelompok uji kontrol normal, tikus putih jantan galur wistar diberi diet pakan standar sepanjang penelitian dan akuades sepanjang penelitian.
- K2 : Kelompok uji kontrol negatif diinduksi STZ-NA, namun tidak mendapatkan kunir putih dan hanya mendapatkan pakan standar + aquades ad libitum hari ke-12 hingga hari ke-39.
- K3 : Kelompok perlakuan I diinduksi STZ-NA diberikan pakan standar + akuades dengan mendapatkan kunir putih dosis 9 mg/200gBB pada hari ke-12 hingga hari ke 39.
- K4 : Kelompok perlakuan II diinduksi STZ-NA diberikan pakan standar + akuades dengan mendapatkan kunir putih dosis 18 mg/200gBB pada hari ke-12 hingga hari ke 39.

3.5.6 Cara Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan di sinus orbitalis tikus, 24 jam pasca induksi streptozotocin dan niacinamid. Darah kemudian dimasukkan pada tabung dengan antikoagulan EDTA 1,5 ml.

3.5.7 Cara Pemeriksaan Kadar Bilirubin

Pentapan kadar bilirubin dilakukan dengan metode *Jendrasik- Grof* mempergunakan alat *autoanalyzer spectrophotometer* dengan prinsip bilirubin menghasilkan senyawa azo yang memiliki warna merah. Pemeriksaan bilirubin total memiliki prosedur kerja yaitu 40 µl reagen nitrit total dicampurkan dengan 1000 µL reagen bilirubin total dan ditambahkan serum 100 µL, selanjutnya campuran diinkubasi dalam waktu 10 - 30 menit dalam suhu kamar kemudian dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 546 nm.

Total Bilirubin = Bilirubin *Direct* + Bilirubin *Indirect* (Azizah, 2017).

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

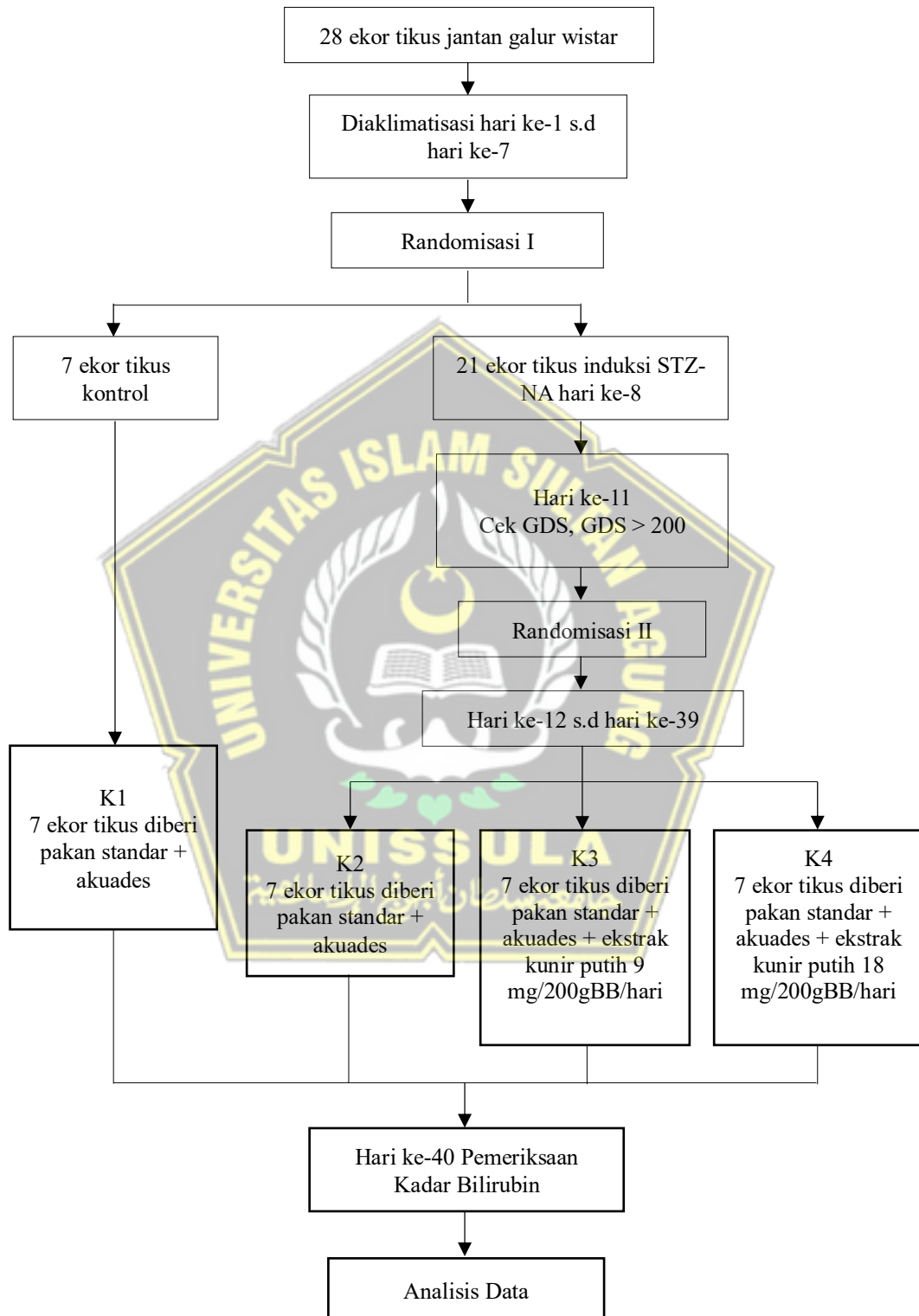
3.6.1 Tempat Penelitian

Perlakuan hewan coba dan proses perhitungan kadar bilirubin dilaksanakan di Laboratorium Gizi PSPG Universitas Gajah Mada.

3.6.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli - Agustus 2024

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.8 Analisis Data

Kadar bilirubin total ditentukan menggunakan data yang didapatkan dengan metode ELISA. Uji diawali dengan uji parametrik Shapiro-Wilk dan uji Lvene untuk mengetahui normalitas persebaran dan homogenitas data dengan jumlah sampel ≤ 50 dan skala data bilirubin berupa rasio. Analisis normalitas dengan uji Shapiro-Wilk didapatkan $p < 0,05$ yang menunjukkan sebaran tidak normal dan analisis homogenitas dengan uji Levene didapatkan $p < 0,05$ yang menunjukkan variasi data tidak homogen. Hasil data dengan sebaran tidak normal dan variasi data tidak homogen dilanjutkan dengan uji nonparametrik Kruskal Wallis dan didapatkan $p < 0,05$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setidaknya ada dua kelompok yang memiliki perbedaan signifikan sehingga perlu dilakukan analisis antarkelompok. Analisis antar kelompok dilakukan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perbandingan kelompok dengan perbedaan signifikan (Sastroasmoro, 2016).

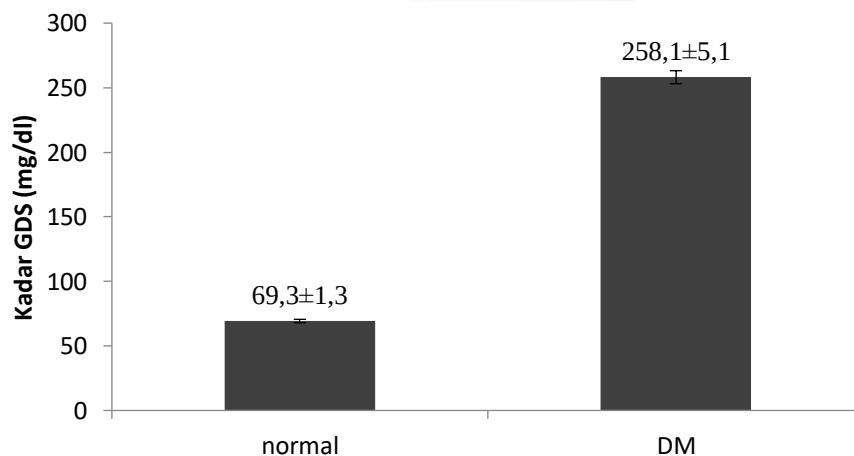
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini diadakan di Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada pada tanggal 8 Juli – 16 Agustus 2024. Penelitian dimulai dengan memilih 28 tikus putih jantan galur wistar berumur 2 bulan yang memiliki berat badan 200 gram dan masih hidup sehat hingga akhir penelitian. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari, pada hari berikutnya dilakukan randomisasi yang pertama menjadi dua kelompok dengan perbandingan 1 : 3. Kelompok pertama berisi 7 ekor tikus untuk kontrol normal (K1) dan kelompok berikutnya berisi 21 ekor tikus untuk model diabetes melitus (DM).

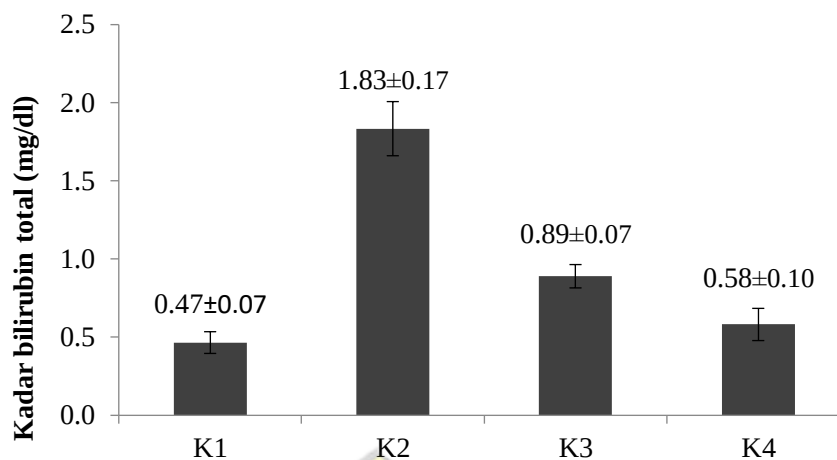
Model DM dibuat melalui induksi nicotinamide (NA) 110 mg/kgBB dilanjutkan dengan streptozotocin (STZ) 45 mg/kgBB 15 menit kemudian secara intraperitoneal. Tiga hari pasca induksi STZ-NA dilakukan pengukuran glukosa darah sewaktu (GDS) untuk mengetahui apakah induksi berhasil. Kadar GDS tikus paska induksi ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Rerata kadar GDS antara tikus normal dan model DM

Gambar 4.1 memperlihatkan kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA memiliki rerata kadar GDS yang lebih tinggi daripada tikus pada kelompok normal (K1). Rerata kadar GDS pada kelompok tikus model DM adalah $258,1 \pm 5,1$ mg/dl. Rerata kadar GDS yang tinggi mengindikasikan bahwa proses induksi STZ-NA telah berhasil dan dapat dilanjutkan untuk randomisasi kedua. Randomisasi kedua dilakukan untuk membagi tikus DM menjadi 3 kelompok yang meliputi kelompok tikus model DM perlakuan standar (K2), tikus DM dengan pemberian ekstrak kunir putih 9 mg/200 gBB (K3) dan tikus DM dengan pemberian ekstrak kunir putih 18 mg/200 gBB (K4) selama 28 hari.

Pemeriksaan kadar bilirubin dilakukan pada hari ke-40 setelah perlakuan. Sampel darah diambil dari sinus orbitalis dari keempat kelompok tikus dan pemeriksaan kadar bilirubin dilakukan dengan metode *spectrophotometry*. Rerata kadar bilirubin keempat kelompok ditunjukkan pada Gambar 4.2. Kelompok K2 menunjukkan rerata kadar bilirubin tertinggi ($1,83 \pm 0,17$ mg/dl) sedangkan kelompok normal (K1) menunjukkan kadar bilirubin terendah ($0,47 \pm 0,07$ mg/dl). Dua kelompok lainnya, yaitu kelompok perlakuan 1 (K3) dan kelompok perlakuan 2 (K4) menunjukkan rerata kadar bilirubin masing-masing sebesar $0,89 \pm 0,07$ mg/dl dan $0,58 \pm 0,10$ mg/dl lebih tinggi daripada K1 namun lebih rendah daripada K2.



Gambar 4.2 Rerata kadar bilirubin total antar kelompok

Kadar bilirubin pada setiap kelompok selanjutnya dianalisis normalitas sebaran datanya dengan Uji *Saphiro Wilk* dan didapatkan kelompok K2 dan K4 memiliki sebaran data normal ($p=0,224$ dan $p=0,087$) sedangkan pada K1 dan K3 memiliki sebaran tidak normal dengan nilai p masing-masing 0,001 atau $p<0,05$ (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Hasil analisis kadar bilirubin total antar kelompok

Kelompok	Nilai p		
	<i>Shapiro Wilk</i>	<i>Levene</i>	<i>Kruskal Wallis</i>
K1	0,001	0,012	<0,001
K2	0,224*		
K3	0,001		
K4	0,087*		

*: sebaran data normal

Analisis homogenitas varian dengan Uji *Levene* dan didapatkan nilai $p=0,012$ ($p<0,05$) yang menunjukkan bahwa homogenitas varian kadar bilirubin di keempat kelompok tidak terpenuhi. Analisis perbedaan rerata kadar bilirubin antara keempat kelompok dilakukan dengan Uji *Kruskal Wallis* dan didapatkan nilai $p<0,001$ yang berarti setidaknya terdapat dua kelompok dengan kadar bilirubin total yang berbeda secara signifikan. Hasil uji tersebut mendasari dilakukannya Uji

Mann Whitney untuk mengetahui kadar bilirubin total kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Kadar Bilirubin antar Dua Kelompok

Kelompok		<i>P</i> Value Uji <i>Mann Whitney</i>
Normal (K1)	Kontrol Negatif (K2)	0,001
	Perlakuan 1 (K3)	0,001
	Perlakuan 2 (K4)	0,040
Kontrol Negatif (K2)	Perlakuan 1 (K3)	0,001
	Perlakuan 2 (K4)	0,002
Perlakuan 1 (K3)	Perlakuan 2 (K4)	0,001

Hasil uji *Mann Whitney* memperlihatkan terdapat perbedaan kadar bilirubin total antara kelompok K1 dengan K2, K3 dan K4, serta terdapat perbedaan kadar bilirubin antara kelompok K2 dengan K3 dan K4, juga terdapat perbedaan kadar bilirubin kelompok K3 dengan K4. Kadar bilirubin total kelompok K1 secara signifikan lebih rendah dari kelompok K2, K3 dan K4 dengan nilai *p* secara berturut-turut 0,001; 0,001 dan 0,040. Kadar bilirubin kelompok K2 secara bermakna lebih tinggi dari K3 dan K4 dengan nilai *p* 0,001 dan 0,002, serta kadar bilirubin kelompok K3 berbeda signifikan lebih tinggi dari kelompok K4 dengan nilai *p*=0,001.

4.2 Pembahasan Hasil

Hasil kadar GDS pada Gambar 4.1 memperlihatkan perbedaan pada kelompok normal (K1), yaitu $69,3 \pm 1,3$ mg/dl dan pada kelompok yang mendapatkan induksi STZ-NA memiliki kadar bilirubin lebih tinggi dibanding kelompok lainnya hingga $258,1 \pm 5,1$ mg/dl. Kadar GDS yang tinggi tersebut menunjukkan bahwa induksi STZ-NA berhasil membuat tikus putih jantan masuk dalam kategori DM karena nilai kadar GDS >200 mg/dl. Induksi STZ yang

diberikan mengakibatkan metilasi DNA ke sel β pankreas yang akan berpengaruh pada akumulasi natrium dalam sel sehingga akan menarik air (H_2O). Proses hiperglikemia juga akibat dari induksi NA yang membantu agar sel β pankreas tidak sepenuhnya terjadi kematian sel. Kombinasi STZ-NA berperan dalam pembuatan tikus model DM tipe 2 pada hewan coba (Muthmainah, 2021).

Hasil dari rerata kadar bilirubin K2 lebih tinggi dibanding K1 sehingga memperlihatkan perbedaan yang signifikan. Perbedaan rerata kadar bilirubin ini membuktikan bahwa induksi STZ-NA mengakibatkan peningkatan kadar bilirubin secara signifikan. Temuan ini sesuai dengan hasil penelitian Muthmainah (2021), bahwa induksi STZ dosis 45 mg/kg dan NA dosis 110 mg/kg selama 3 hari dapat menyebabkan peningkatan kadar bilirubin karena sifat hepatoksisitasnya. Peningkatan kadar bilirubin pada K2 menunjukkan bahwa STZ-NA dapat menyebabkan kerusakan hepar. Kerusakan hepar akibat induksi STZ-NA dapat melalui beberapa jalur, salah satunya adalah adanya peningkatan ekspresi NF- κ B sehingga meningkatkan ekspresi enzim NADPH sehingga terjadi peningkatan superoksida. Peningkatan superoksida yang disertai dengan peningkatan *nitric oxide* (NO) yang akan memengaruhi peningkatan aktivitas ROS dan berpengaruh aktivitas metabolisme seluler. Kenaikan kadar bilirubin merupakan salah satu temuan ketika terjadi kerusakan pada hepar (Tanuwijaya, 2020).

Rerata kadar bilirubin antara K3 lebih rendah dibandingkan dengan K2 yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan, dimana pemberian ekstrak kunir putih yang salah satunya mengandung kurkumin dengan dosis 9 mg/200gBB tikus dapat menghambat peningkatan kadar bilirubin pada tikus model DM. Sesuai dengan

penelitian yang telah dilakukan oleh Samuhasaneto yang menunjukkan bahwa pemberian kurkumin secara oral dapat menghambat kadar *malondialdehid* (MDA) hepar serta menekan ekspresi NF- κ B serta dapat mencegah apoptosis hepatosit.

Kadar bilirubin pada K3 dan K4 lebih rendah dibandingkan kadar bilirubin pada kelompok K2. Perbedaan kadar bilirubin ini membuktikan bahwa ekstrak kunir putih memiliki manfaat sebagai hepatoprotektor yang berperan dalam pencegahan kenaikan kadar bilirubin akibat aktivitas ROS. Peningkatan kadar bilirubin akibat proses inflamasi yang melalui jalur PKC akan meningkatkan ekspresi NF- κ B yang akan meningkatkan enzim NADPH. Proses inflamasi melalui jalur PKC akan meningkatkan stres oksidatif yang memicu peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi, proteolisis dan aktivasi ROS yang menyebabkan kerusakan DNA serta membran mitokondria hingga kematian sel hepatosit. Proses kerusakan sel hepatosit dapat ditandai dengan penurunan kadar bilirubin. Antioksidan yang terkandung dalam kunir putih akan berperan dalam melindungi sel hepatosit yang masih hidup. Kandungan flavonoid dalam kunir putih akan menghambat jalur PKC dengan menekan ekspresi NF- κ B, menghambat terbentuknya stres oksidatif pada jalur poliol sorbitol serta menghambat MAPK dalam aktivasi sitokin proinflamasi dalam proses kerusakan hepar (Tanuwijaya, 2020).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wardhani (2021), pemberian ekstrak kunir putih dengan dosis 400mg/kgBB dapat menurunkan glukosa dalam darah secara signifikan sehingga mencegah proses komplikasi pada hepar. Kunir putih mengandung antioksidan, salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid dalam kunir putih berperan dalam proses penghambatan ekspresi AGE dan RAGE melalui jalur

poliol-sorbitol dan menekan ekspresi dari sitokin proinflamasi sehingga kerusakan sel hepatosit dapat dicegah (Wardhani, 2021).

Hasil kadar bilirubin K4 lebih rendah dibandingkan K3, dimana rerata kadar bilirubin tikus yang diberikan ekstrak kunir putih dosis 9 mg/200gBB berbeda signifikan dengan tikus yang diberikan ekstrak kunir putih dosis 18 mg/200gBB. Hal ini dapat disebabkan karena senyawa antioksidan dalam ekstrak kunir putih pada kedua dosis tersebut memiliki jumlah yang tidak jauh berbeda, sehingga radikal bebas yang berhasil dinetralkan tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Kesimpulan hasil penelitian ini yaitu pemberian ekstrak kunir putih dosis 18 mg/200gBB memiliki hasil yang signifikan terhadap K2 sehingga lebih efektif dalam menghambat peningkatan kadar bilirubin pasca induksi STZ-NA.

Hasil kadar bilirubin menunjukkan bahwa antara K1 dengan K4 memperlihatkan adanya perbedaan signifikan. Ini memiliki arti bahwa pemberian ekstrak kunir putih dapat menekan peningkatan kadar bilirubin. Namun, pemberian ekstrak kunir putih baik dengan dosis 9 mg/200gBB tikus dan dosis 18 mg/200gBB tikus belum dapat mengembalikan kadar bilirubin pada jumlah yang normal.

Keterbatasan penulis pada penelitian ini adalah peneliti belum melakukan optimalisasi dosis untuk mengembalikan kadar bilirubin tikus model DM pada nilai normal serta penelitian belum melakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan ekstrak kunir putih yang memiliki pengaruh paling besar terhadap penurunan kadar bilirubin pada tikus model DM. Peneliti juga tidak melakukan pemeriksaan histopatologi pada sel hepatosit tikus.

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini, sebagai berikut:

- 5.1.1 Ekstrak kunir putih berpengaruh terhadap kadar bilirubin pada tikus jantan galur wistar model DM.
- 5.1.2 Rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model DM pada K1 adalah $0,47 \pm 0,07$ mg/dl.
- 5.1.3 Rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model DM pada K2 adalah $1,83 \pm 0,17$ mg/dl.
- 5.1.4 Rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model DM yang mendapatkan ekstrak kunir putih 9mg/200grBB tikus sebagai K3 adalah $0,89 \pm 0,07$ mg/dl.
- 5.1.5 Rerata kadar bilirubin pada tikus putih jantan galur wistar model DM yang mendapatkan ekstrak kunir putih 18mg/200grBB tikus sebagai K4 adalah $0,58 \pm 0,10$ mg/dl.
- 5.1.6 Kadar bilirubin K1 dengan K2 berbeda signifikan, demikian juga pada K1 dengan K3, K1 dengan K4, K2 dengan K3, K2 dengan K4 serta K3 dengan K4 yang memiliki nilai ($p < 0,005$).

5.2 Saran

Beberapa saran yang bisa dipaparkan untuk penelitian ini, yaitu:

- 5.2.1 Penelitian perlu diadakan uji fitokimia untuk mengetahui perbandingan dari kandungan ekstrak kunir putih yang memiliki pengaruh paling tinggi terhadap kadar bilirubin pada tikus jantan galur wistar model DM.
- 5.2.2 Penelitian perlu dilakukan optimalisasi dosis untuk mengetahui pengaruh ekstrak kunir putih terhadap kadar bilirubin secara optimal pada tikus jantan galur wistar model DM.
- 5.2.3 Penelitian perlu dilakukan pemeriksaan histopatologi pada sel hepatosit untuk mengetahui derajat kerusakan yang terjadi pada hepar.



DAFTAR PUSTAKA

- Adin, C. A. (2021). Bilirubin as a therapeutic molecule: Challenges and opportunities. In *Antioxidants* (Vol. 10, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox10101536>
- Anugrah, C., Purwandari, A., Wirjatmadi, R. B., Mahmudiono, T. (2022). *Faktor Risiko Terjadinya Komplikasi Kronis Diabetes Melitus Tipe 2 pada Pra Lansia Risk Factors Chronic Complications of Type 2 Diabetes Melitus in Pre-Elderly*. 6(3), 262–271. <https://doi.org/10.20473/amnt.v6i3.2022.262>
- Azizah, N., Darmawan, E., Nurani, H. L., Dahlan, A. (2017). Efek Kapsul Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Kadar Bilirubin Sukarelawan Sehat. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(1), 13.
- Cheriyath, P. (2010). High Total Bilirubin as a Protective Factor for Diabetes Melitus: An Analysis of NHANES Data From 1999 - 2006. *Journal of Clinical Medicine Research*. <https://doi.org/10.4021/jocmr425w>
- Chopipah, S., Solihat, S. S., Nuraeni, E., Maulana, S. H. (2021). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid pada Daun Benalu, Katuk, Johar, dan Kajajahi : Review Antioxidant activity of flovanoïd compounds in benalu, katuk, johar, and kajajahi leaves: A review. In *Tropical Bioscience: Journal of Biological Science* (Vol. 1, Issue 2).
- Chyntia D. T. D. (2020). *Efek Pemberian Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera) Terhadap Kadar Sgot Dan SGPT Tikus Model Diabetes Yang Diinduksi Streptozotocin*.
- Faradilla, M. A., Siregar, Y., & Dalimunthe, D. (2017). Penurunan Bilirubin Meningkatkan Oksidasi Lipoprotein A Pada Nefropati Diabetik. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 17(3), 152–158. <https://doi.org/10.24815/jks.v17i3.9063>
- Gani, J. O., Wardhani, F. M., & Tandanu, E. (2021). Uji toksisitas akut Ekstrak kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) Pada Ginjal Tikus Wistar Jantan. *Majalah Kesehatan*, 8(4), 192–198. <https://doi.org/10.21776/ub.majalahkesehatan.2021.008.04.2>
- Guerra R. A. R., Crespo, J., Martínez, L. R. M., Iruzubieta, P., Mercadal, S. G., Garcés, L. M., Lavin, B., & Ruiz, M. M. (2021). Measurement and clinical usefulness of bilirubin in liver disease. In *Advances in Laboratory Medicine* (Vol. 2, Issue 3, pp. 352–361). Walter de Gruyter GmbH. <https://doi.org/10.1515/almed-2021-0047>

- Hardianto, D. (n.d.). *Bioteknologi & Biosains Indonesia A Comprehensive Review of Diabetes Melitus: Classification, Symptoms, Diagnosis, Prevention, and Treatment*. <http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
- Hidayat, M., Adhika, O. A., Tanuwijaya, F., Nugraha, A., & Hutagalung, R. B. (2019). Effective Dose of Rosella Calyx Extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) against Liver Marker Enzymes and Liver Histopathological of High-Fat Feed-Induced Rats. In *Journal of Medicine and Health Effective Dose of Rosella...* (Vol. 2, Issue 4).
- Malik, M., Ulma, A. B., Sarmoko, S., & Nugraha, Y. (2021). <title/>. *Acta Pharmaciae Indonesia : Acta Pharm Indo*, 9(1), 70. <https://doi.org/10.20884/1.api.2021.9.1.3323>
- Maruhashi, T., Kihara, Y., & Higashi, Y. (2019). Bilirubin and endothelial function. In *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* (Vol. 26, Issue 8, pp. 688–696). Japan Atherosclerosis Society. <https://doi.org/10.5551/jat.RV17035>
- Nurrofikoh, M., Fatima, A., Hastuti, H., Fauziyah, O., Nursiswati, N., & Pebrianti, S. (2023). Cegah dan Kenali Kondisi Hati (CEK SI HATI) sebagai Upaya Pendidikan Kesehatan terkait Sirosis Hati Kepada Masyarakat. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (PKM)*, 6(7), 2984–3008. <https://doi.org/10.33024/jkpm.v6i7.10160>
- Nurwati, I., Handayani, S., Saptiwi, B., & Ma, S. (2021). Biji Mahoni Memperbaiki Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Model Tipe, I., 2621–0916. <https://doi.org/10.13057/smj.v4i2>
- Pratomo, B., Indra Praja, D., Anwar Malang, S., & Anwar Malang Korespondensi, S. (2018). Pengaruh Kurkumin Terhadap Kadar NF- κ B dan Derajat Fibrosis Hati pada Tikus *Fibrosis Hati The Effects of Curcumin on NF- κ B Level and Degree of Liver Fibrosis in Rat Liver Fibrosis*. In *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia* | (Vol. 5, Issue 4).
- Prawitasari, D. S. (2019). Diabetes Melitus dan Antioksidan. *Diabetes Melitus Dan Antioksidan. KELUWIH : Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(1), 48–52. <https://doi.org/10.24123/jkkd.v1i1.19>
- Sagita, N. D., Sopyan, I., & Hadisaputri, Y. E. (2022). Kunir Putih (*Curcuma zedoaria* Rocs.): Formulasi, Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologi. *Majalah Farmasetika*, 7(3), 189. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v7i3.37711>
- Sari, S., Ginting, N. C., Chiuman, L., & Ferdinan G, S. (2022). Effect of Ethanol Extract of White Turmeric (*Curcuma Zedoaria*) as Hepatoprotector in Male Rats Induced By Cuso₄ Pentahydrate. *Journal Research of Social, Science, Economics, and Management*, 1(6), 747–753. <https://doi.org/10.36418/jrssem.v1i6.94>

- Sofiana P. M. (n.d.). Curcuma zedoaria): Its Chemical Substance and The Pharmacological Benefits. In J MAJORITY | (Vol. 3).
- Suprihatin, T., Rahayu, S., Rifa, M., & Widyarti, S. (n.d.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 5 Nomor 1 Februari 2020 Senyawa pada Serbuk Rimpang Kunyit (Curcuma longa L.) yang Berpotensi sebagai Antioksidan Compounds in Turmeric Rhizome Powder (Curcuma longa L.) which have Potential as Antioxidants.*
- Supriono, S., Pratomo, B., & Praja, D. I. (2019). Pengaruh Kurkumin Terhadap Kadar NF- κ B dan Derajat Fibrosis Hati pada Tikus Fibrosis Hati. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 5(4). <https://doi.org/10.7454/jpdi.v5i4.271>
- Suwandi, E., & Djohan, H. (2018). Jurnal Laboratorium Khatulistiwa Hasil Pemeriksaan Bilirubin Total Pada Sampel Serum dan Plasma EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid). In *JLK* (Vol. 2, Issue 1).
- Valášková, P. (2016). Metabolisme bilirubin dan sifat biologisnya. In *Klin. Biokimia. Metab* (Vol. 24, Issue 45). www.onlinedoctranslator.com
- Vítek, L., & Tiribelli, C. (2021). Bilirubin: The yellow hormone. In *Journal of Hepatology* (Vol. 75, Issue 6, pp. 1485–1490). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.06.010>
- Xu, X. Y., Meng, X., Li, S., Gan, R. Y., Li, Y., & Li, H. bin. (2018). Bioactivity, health benefits, and related molecular mechanisms of curcumin: Current progress, challenges, and perspectives. In *Nutrients* (Vol. 10, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu10101553>
- Zheng, J., Cheng, J., Zheng, S., Feng, Q., & Xiao, X. (2018). Curcumin, a polyphenolic curcuminoid with its protective effects and molecular mechanisms in diabetes and diabetic cardiomyopathy. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 9, Issue MAY). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00472>