

Efek Ekstrak Etanol Daun *Premna cordifolia* terhadap Malondialdehida Tikus yang Dipapar Asap Rokok

Asri Adyitia¹, Eka Kartika Untari¹, Sri Wahdaningsih¹

¹Fakultas Kedokteran, program Studi Farmasi,
Universitas Tanjungpura, Pontianak

Email: asriadyitiaasri@gmail.com

Abstrak

Radikal bebas asap rokok dapat menyebabkan peroksidasi lipid yang ditandai dengan meningkatnya kadar Malondialdehida (MDA). Daun *Premna cordifolia* diketahui memiliki aktivitas antioksidan secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *P. cordifolia* terhadap kadar MDA tikus yang terpapar asap rokok. Siplisia diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak dua puluh empat tikus jantan galur wistar dibagi ke dalam enam kelompok perlakuan yaitu kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif yang diberi paparan asap rokok dan vitamin E (18mg/kgBB) dan tiga kelompok yang diberi paparan asap rokok dan ekstrak daun *P. cordifolia* dengan dosis 200; 400; 600 mg/kg BB. Perlakuan dilakukan selama 14 hari. Kadar MDA diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532,2 nm. Kadar MDA kontrol normal 0,0094±0,080 ppm; kontrol negatif 13,733±2,829 ppm; kontrol positif 0,051±0,045 ppm; dosis 200, 400 dan 600 mg/kgBW adalah 9,142±2,364; 0,120±0,019; 0,053±0,041 ppm. Analisis statistik kadar MDA menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Kadar MDA pada kelompok yang diberi ekstrak daun *P. cordifolia* secara signifikan ($p>0,05$) lebih rendah dibandingkan kelompok negatif. Hasil ini menunjukkan ekstrak daun *P. cordifolia* dapat menurunkan kadar MDA pada tikus yang terpapar asap rokok.

Abstract

Free radical from cigarette smoke cause lipid peroxidation that could be identified by increasing levels of Malondialdehida (MDA). *Premna cordifolia* leaves known having antioxidant activity in *in vitro* study. This study aimed to know the effect of *P. cordifolia* leaves extract on the levels of MDA after exposure to cigarette smoke. The simplicia extracted by maseration using 70% ethanol. Twenty four male wistar rats were divided into six groups, i.e. : control normal, negative control, positive control received cigarette smoke exposure and vitamin E (18mg/kg BW) and three groups received cigarette smoke exposure and *P. cordifolia* leaves extract with doses 200; 400; 600 mg/kg BW. All rats were treated for 14 days. Measurement of MDA level using Spectrophotometer UV-Vis in 532,2 nm. MDA levels in the normal group was 0.0094±0.080 ppm; negative group was 13,733±2,829 ppm; positive group was 0,051±0,045 ppm; dose 200; 400; 600 mg/kg BW were 9,142±2,364; 0,120±0,019; 0,053±0,041 ppm. The MDA level was analyzed by the Kruskal-Wallis test and following by Mann-Whitney test. The result showed that MDA level of group receiving *P. cordifolia* leaves extract significantly ($p<0,05$) lower than negative control group. These result show *P. cordifolia* leaves extract can reducing the MDA level on the rats that exposed by cigarette smoke.

Keywords: Cigarette smoke, MDA, antioxidant, P. cordifolia leaves extract

PENDAHULUAN

Merokok merupakan salah satu gaya hidup utama yang berpengaruh pada kesehatan manusia. Sebagian besar perokok berasal dari negara berkembang dan dari golongan sosial ekonomi rendah (Yanbaeva *et al.*, 2007). Indonesia merupakan negara ketiga yang memiliki jumlah perokok aktif terbanyak di dunia yaitu 61,4 juta perokok setelah Cina dan India. Perilaku merokok penduduk Indonesia cenderung meningkat dari 34,2% pada tahun 2007 menjadi 36,3% pada tahun 2013 (WHO, 2013). Merokok dalam jangka waktu yang panjang mempunyai pravelensi terhadap beberapa penyakit seperti *atherosclerosis* dan *chronic obstructive pulmonary disease* (COPD) dengan dampak sistemik yang signifikan (KeMenKes RI, 2013).

Rokok mengandung berbagai bahan kimia antara lain nikotin, karbon monoksida, tar dan eugenol (dalam rokok kretek). Asap rokok mengandung 10^{14-16} molekul oksidan seperti superoksida, hidrogen peroksida, hidroksil dan peroksil dalam satu kali hisapan (Yanbaeva *et al.*, 2007). Asap rokok mengakibatkan stress oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya radikal oksidan dan reaksi inflamasi berupa peningkatan jumlah total leukosit dan neutrofil darah perifer (Nagamma *et al.*, 2007). Radikal bebas dari asap rokok menyebabkan peroksidasi dari asam lemak ganda tak jenuh membran sel yang memperkuat stres oksidatif selama merokok (Sela *et al.*, 2004). Penggunaan rokok dalam waktu yang lama dapat menyebabkan ketidakseimbangan oksidan-

antioksidan sistemik yang ditandai dengan adanya hasil dari peroksidasi lipid yaitu MDA (Malondialdehida) (Rumley *et al.*, 2004). Terdapat hubungan antara lama pemaparan rokok dengan peningkatan kadar MDA (Yueniwati & Ali, 2004).

Antioksidan merupakan senyawa yang berguna mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh (Wulansari, 2011). Daun *P. cordifolia* merupakan salah satu alternatif bahan makanan sumber antioksidan yang belum banyak diteliti kegunaannya. Masyarakat umumnya menggunakan daun *P. cordifolia* sebagai bumbu masakan dan makanan. *P. cordifolia* memiliki kandungan kimia fenolik dan flavonoid yang berperan dalam aktivitas antioksidan (Ali, 2008). Menurut Bakar 2010, ekstrak etanol daun *P. cordifolia* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat aktif dengan nilai IC_{50} sebesar $31,91 \pm 0,43$ $\mu\text{g/ml}$ (Bakar *et al.*, 2010). Penelitian tersebut menjadi dasar dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan secara *in vivo* dari ekstrak etanol 70% daun *P. cordifolia*. Pengujian ini dilakukan dengan mengukur kadar MDA tikus jantan galur Wistar yang diberi paparan asap rokok dan ekstrak etanol daun *P. cordifolia*.

METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *blender* simplisia (*IlinQi* FZ-10®), bejana maserasi, cawan krusibel, *waterbath* (*Memmert* WNB 14®), timbangan analitik (*BEL* M254AI®), rotary evaporator

(Heldolph®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu MR 2500®), oven (Memmert UP400®), desikator, timbangan analitik (Precisa®), alat-alat gelas (Pyrex Iwaki®), Vortex (Barnstead M37610®), mikropipet (Rainin E1019705K®), blood tube, sonde oral, spuit 1cc dan 3cc, hot plate (Schott Instrument®), mortir dan stamper, alat bedah, sentrifuge, shaker, yellow tip dan smoking chamber.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun *P. cordifolia*, vitamin E, etanol 70% (Merck®), serbuk magnesium, larutan HCl pekat, larutan HCl 2N, larutan FeCl₃ 5%, asamasetatglasial, asamasetatanhidrat, larutan H₂SO₄ pekat, larutan H₂SO₄ 2N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, aquades, kloroform, amonia, larutan NaCl 10%, gelatin 1%, CMC (Carboxy Methyl Cellulose), aluminium foil, kertas saring, TBA (tiobarbituric acid), TCA (trichloro acid) dan TMP (tetrametoksipropana).

Pembuatan ekstrak

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Simplisia daun *P. cordifolia* sebanyak 300 gram direndam dengan pelarut etanol 70% sebanyak 6 liter, dilakukan pergantian pelarut setiap 1x24 jam dan pengadukan sesering mungkin. Kemudian ekstrak etanol tersebut dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental.

Pengujian aktivitas antioksidan

Perlakuan hewan percobaan. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Sampel diperoleh secara acak yang memenuhi kriteria inklusi yaitu tikus putih jantan galur wistar, umur 2– 3 bulan, berat badan 100-200 gram. Seluruh hewan percobaan diadaptasikan selama tujuh hari. Tikus yang diadaptasi akan diberikan makan dan minum secukupnya. Hewan percobaan dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. Kelompok A merupakan kelompok normal tanpa paparan asap rokok dan hanya diberi suspensi CMC 1%. Kelompok B adalah kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan paparan asap rokok dan suspensi CMC 1%. Kelompok C adalah kelompok kontrol positif yang diberikan paparan asap rokok dan vitamin E dengan dosis 18 mg/kg BB. Kelompok D, E dan F adalah kelompok perlakuan yang diberikan paparan asap rokok dan ekstrak etanol daun *P. cordifolia* dengan dosis 200, 400 dan 600 mg/kg BB. Rokok yang digunakan adalah rokok kretek tanpa filter. Proses pemaparan dilakukan setiap pagi menggunakan 3 batang rokok setiap 1 kali pemaparan. Pemaparan dilakukan selama 14 hari didalam sebuah wadah yang terbuat dari plastik ukuran 38,5x28,5x22,5 cm yang dilengkapi dengan ventilasi, dua buah pompa udara dan tempat pembakaran rokok.

Pengambilan sampel darah. Tikus dipuasakan selama 1x24 jam sebelum dilakukan pengambilan darah. Dilakukan dislokasi tulang leher dan pembedahan

tikus. Darah diambil melalui jantung dengan menggunakan spuit berukuran 3 mL. Darah yang telah diambil ditampung dalam *blood tube* dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit (Momuat *et al.*, 2013). Plasma darah yang terletak pada bagian atas dipisahkan dan diambil untuk dianalisis konsentrasi MDA.

Pembuatan kurva baku. Larutan stok pereaksi 1,1,3,3-tetraetoksipropana (TEP) konsentrasi 6 M diencerkan menjadi 0,3; 0,4; 0,5; 0,7; 0,8; 0,9 ppm. Setiap konsentrasi TMP direaksikan dengan 1,0 mL TCA 20% dan 1,0 mL TBA 1% dalam pelarut asam asetat glasial 50%. Semua larutan kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 95°C. Setelah didinginkan, larutan disentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 15 menit (Momuat *et al.*, 2013). Supernatan pada lapisan atas diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532,2 nm.

Pengukuran sampel. Pengukuran konsentrasi dari sampel percobaan dilakukan dengan cara yang sama seperti larutan standar, yaitu 1,0 mL plasma darah direaksikan dengan 1,0 mL TCA 20% dan 1,0 mL TBA 1% dalam asam asetat glasial 50%, kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 95°C, kemudian dibiarkan dingin. Larutan disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 1000 rpm (Momuat *et al.*, 2013). Supernatan dipisahkan kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532,2 nm. Konsentrasi

sampel diperoleh dengan memplot data absorbansi sampel ke dalam kurva standar

Analisis data

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program komputer *Statistical Program Service Solution* (SPSS) versi 17. Analisis data menggunakan uji non parametrik yaitu dengan Uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan Uji Mann-Whitney. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Teknik ekstraksi daun *P. cordifolia* dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Prinsip maserasi adalah pengambilan zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Sembiring *et al.*, 2006). Ekstrak etanol daun *P. cordifolia* yang diperoleh sebesar 88 gram dengan nilai rendemen 29,33 %. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun *P. cordifolia* adalah 14,523 %. Ekstrak

dengan persentase 14,523% termasuk dalam rentang ekstrak kental yaitu 5-30%.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia telah dilakukan pada ekstrak etanol daun *P. cordifolia*. Skrining fitokimia merupakan tahapan awal untuk mendeteksi keberadaan golongan senyawa yang terdapat pada suatu bahan alam. Pemeriksaan kandungan fitokimia dilakukan dengan menggunakan uji tabung yaitu dengan mereaksikan sampel dengan larutan pereaksi spesifik. Hasil skrining menunjukkan bahwa ekstrak etanoldaun *P. cordifolia* mengandung

senyawa yang tergolong alkaloid, flavonoid, triterpenoid, fenol, tanin dan saponin. Hasil skrining dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengujian antioksidan

Perlakuan hewan uji. Sumber radikal bebas yang digunakan adalah asap rokok yang berasal dari rokok tanpa filter. Hewan uji tikus dikondisikan sebagai perokok pasif yang terpapar asap rokok. Menurut Dewi 2003, asap yang dilepaskan ke udara lebih berbahaya karena kandungan nikotin yang lebih tinggi (4-6 kali) dibandingkan asap rokok yang dihisap oleh perokok (Dewi *et al.*, 2003). Hewan uji diberi paparan asap

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun *P. cordifolia*

Pemeriksaan	Reagen	Hasil
Alkaloid	Mayer	+
	Dragendorff	+
	Wagner	+
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	+
Triterpenoid dan steroid	Lieberman-Burchad	+
Tanin	Gelatin 1% dan NaCl	-
Fenol	FeCl ₃ 1%	+
Saponin	Aquades	+

rokok secara akut selama 14 hari dengan tiga batang rokok pada setiap kali paparan. Jumlah rokok yang digunakan didasarkan pada nilai LD₅₀ nikotin untuk tikus yaitu sebesar 50 mg/kg BB (Bradburry, 2008).

Paparan rokok secara akut merupakan metode yang relatif mudah dan sensitif untuk menyelidiki efek spesifik dari asap rokok pada stress oksidatif. Paparan asap rokok secara akut dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang diikuti dengan peningkatan produk peroksidasi lipid (Van der Vaart *et al.*, 2004). Sebelum diberikan perlakuan semua hewan

uji diadaptasikan selama satu minggu untuk menghindari resiko timbulnya stres selama proses transportasi serta menyeragamkan pola makan ataupun pola hidup dengan lingkungan baru. Perlakuan ini bertujuan untuk meningkatkan berat badan tikus hingga sesuai dengan berat badan yang diinginkan pada pengujian. Berat badan yang digunakan pada saat pengujian berkisar antara 100-200 gram. Berdasarkan hasil analisis statistik data berat badan, hewan uji yang digunakan memiliki berat badan yang homogen ($p > 0,05$). Hal ini menandakan hewan uji berada dalam kondisi lingkungan yang sama sehingga diharapkan

tidak menimbulkan hasil yang bias pada pengukuran kadar MDA. Pengamatan yang dilakukan menunjukkan adanya perubahan pada hewan uji sebelum dan sesudah diberi paparan asap rokok. Perubahan yang terjadi menunjukkan terjadinya stress pada hewan uji. Perubahan yang terjadi meliputi dehidrasi yang ditandai dengan hewan uji yang berkeringsat, keaktifan hewan uji yang menurun, detak jantung yang lebih cepat, bunyi seperti mengi pada saat bernapas dan meningkatnya suhu tubuh hewan.

Pengambilan sampel darah. Pengorbanan atau terminasi hewan uji dilakukan pada hari kelima belas dari tiap kelompok perlakuan. Sebelum diterminasi hewan uji dipuaskan selama satu malam. Hewan uji diterminasi secara *dislocatio servicalis* yaitu dislokasi tulang leher hewan uji. Setelah itu, hewan uji dibedah dan diambil darahnya melalui organ jantung. Darah yang diperoleh ditempatkan dalam *blood tube* berisi EDTA yang berfungsi sebagai antikoagulan, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan bagian supernatan dan platelet. Bagian yang diambil adalah supernatan yang mengandung plasma darah. Pengukuran MDA pada plasma darah karena sebagian besar MDA pada darah terdapat di dalam plasma, selain pada serum dan jaringan (Konig & Berg, 2002). Plasma darah yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan kadar MDA.

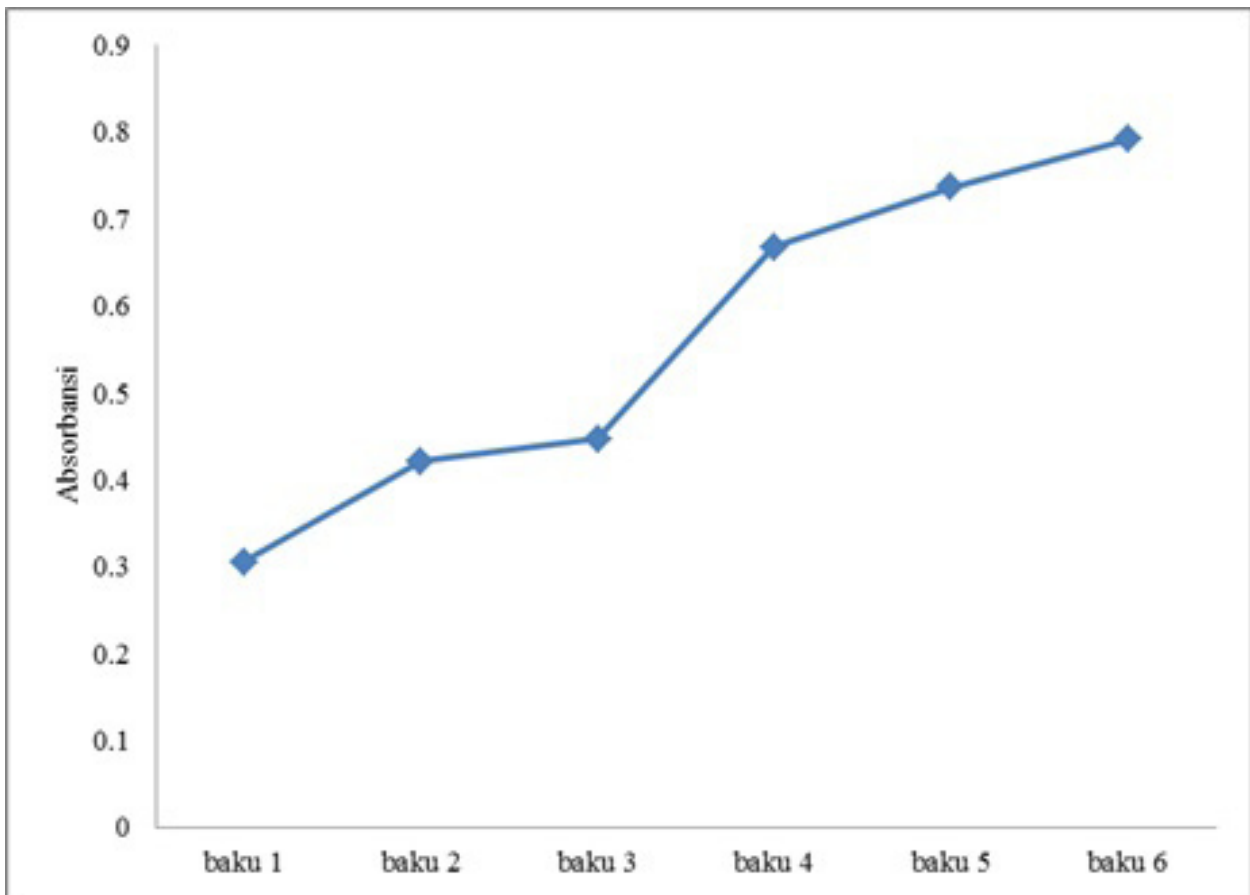
Metode pengukuran MDA yang digunakan adalah metode TBA (*Thiobarbituric Acid*). Menurut Yagi 1994, metode TBA mempunyai

nilai kepekaan yang tinggi terhadap radikal bebas dan mudah diaplikasikan untuk sampel dalam berbagai tahap oksidasi. TBA akan bereaksi dengan gugus karboksilat dari MDA melalui penambahan nukleofilik membentuk kompleks MDA-TBA dalam suasana asam dan menghasilkan produk yang berwarna sehingga dapat dikuantifikasi dengan spektrofotometri (Yagi, 1994).

Plasma yang diperoleh kemudian ditambahkan TCA 20% dan TBA 1%. Penambahan TBA harus dalam keadaan asam yaitu dengan ditambahkan asam asetat glasial 50%, agar dapat bereaksi sempurna dengan MDA. Sedangkan TCA berfungsi untuk mengendapkan protein yang terdapat di dalam plasma. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 45 menit pada suhu 95⁰C untuk mempercepat reaksi (Yagi, 1994). Kemudian disentrifugasi untuk memisahkan supernatan berwarna merah jambu kecokelatan. Supernatant yang diperoleh kemudian diukur kadarnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran kadar MDA dilakukan melalui pengukuran absorbansi plasma darah dari tiap kelompok percobaan. Persamaan kurva baku diperoleh setelah membuat kurva baku kalibrasi TMP dengan menggunakan larutan standar yaitu 1,1,3,3-tetrametoksiopropana. TMP merupakan prekursor dari MDA karena sifatnya yang tidak stabil sehingga dijadikan sebagai standar MDA. TMP akan dihidrolisis oleh air menjadi MDA dan alkohol. Panjang gelombang MDA yang diperoleh dari pembuatan kurva baku adalah 532,2 nm.

Panjang gelombang MDA teoritis adalah 532 nm (Yagi, 1994). Toleransi panjang gelombang yang diperbolehkan untuk jangkauan 400 nm hingga 600 nm yaitu lebih kurang 3 nm, sehingga panjang gelombang yang diperoleh dapat digunakan untuk

mengukur kadar MDA sampel (DepKes RI, 1995). Persamaan kurva baku yang diperoleh adalah $y = 0,8264285714 X + 0,06580952381$ dengan $r = 0,993066$. Kurva regresi linier MDA dapat dilihat pada Gambar 1.

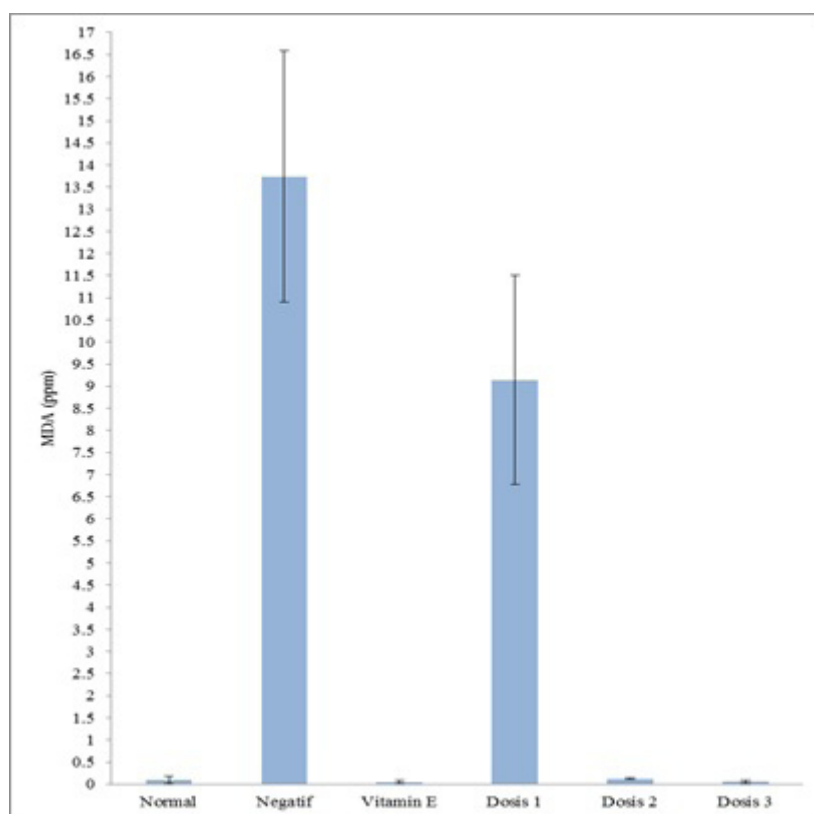


Gambar 1. Kurva regresi linier MDA

Analisis kadar MDA

Kadar MDA dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney. Uji Kruskal-Wallis digunakan untuk melihat perbedaan kadar MDA antara kelompok normal, kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok ekstrak etanol daun *P. cordifolia* dengan dosis 200, 400 dan 600 mg/kg BB. Berdasarkan hasil analisis bahwa paling

sedikit ada dua kelompok perlakuan yang memiliki kadar MDA yang berbeda signifikan ($p < 0,05$). Kemudian dilanjutkan analisis untuk mengetahui perbedaan kadar MDA antar kelompok perlakuan menggunakan uji Mann-Whitney. Hasil kadar MDA pada penelitian ini disajikan pada Gambar 2. Analisis statistik uji mann-Whitney untuk melihat perbandingan kadar MDA kelompok perlakuan dengan disajikan pada Tabel 2.



Gambar 2. Diagram kadar MDA tiap kelompok percobaan

Tabel 2. Perbandingan kadar MDA kelompok perlakuan dengan uji Kruskal-Wallis

Kelompok Perlakuan	N=4	<i>P-value</i>
	Mean ± SD MDA (ppm)	
Normal	0,094±0,080	0,003
Negatif	13,743±2,839	
Vitamin E	0,051±0,045	
Dosis 1 (200 mg/kg BB)	9,142±2,365	
Dosis 2 (400 mg/kg BB)	0,120±0,019	
Dosis 3 (600 mg/kg BB)	0,053±0,041	

Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok normal dan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Dalam keadaan normal radikal bebas dapat diredam oleh aktivitas pertahanan dari senyawa antioksidan endogen, seperti enzim katalase, superoksida

dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), protein glutathion tereduksi (GSH), sehingga menyebabkan rendahnya kadar MDA. Kadar MDA kelompok kontrol negatif yang tinggi karena paparan radikal bebas yang terus-menerus tanpa asupan antioksidan.

Radikal bebas dari asap rokok menyebabkan terjadinya peroksidasi asam lemak tak jenuh membran sel yang memperkuat stres oksidatif (Kevin & Hannah, 2006). Sehingga akan terjadi peningkatan kadar MDA akibat adanya paparan asap rokok (Somwanshi *et al.*, 2013). Berdasarkan Omar and Wasan 2013, rokok dapat meningkatkan kadar MDA secara signifikan pada perokok pasif dan perokok aktif baik terhadap hewan uji tikus maupun manusia (Omar & Wasan, 2013). Meningkatnya konsentrasi lipid peroksida yang terukur menggambarkan gagalnya mekanisme pertahanan antioksidan endogen dalam kehadiran radikal bebas yang berlebih (Balamurugan *et al.*, 2008). Kelompok normal memiliki kadar MDA yang tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$) terhadap kelompok vitamin E. Menurut Traber 2007, vitamin E merupakan penangkap radikal peroksil yang dapat mencegah propagasi radikal bebas pada membran sel dan plasma lipoprotein (Traber *et al.*, 2007).

Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok normal terhadap kelompok dosis 1 (200 mg/kg BB). Sedangkan kadar MDA pada kelompok yang diberi dosis 2 (400 mg/kg BB) dan dosis 3 (600 mg/kg BB) memiliki perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap kelompok normal. Pemberian dosis 3 dapat menurunkan kadar MDA yang tidak signifikan jika dibandingkan terhadap penurunan kadar MDA pada kelompok vitamin E. Dari perbandingan hasil tersebut dapat disimpulkan pemberian dosis 3 merupakan dosis yang dapat menurunkan

kadar MDA tikus yang terpapar asap rokok secara signifikan.

Kemampuan dalam menurunkan kadar MDA karena diduga kandungan flavonoid dan fenolik dari ekstrak etanol daun *P. cordifolia*. Menurut I Wayan 2012, flavonoid adalah antioksidan eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif, terdapat dua mekanisme flavonoid sebagai antioksidan yaitu mendonorkan ion hidrogen sehingga menetralkan efek toksik dari radikal bebas serta meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2), sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen (I Wayan *et al.*, 2012). Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus hidroksil (-OH) yang terdapat pada molekul. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas anti radikalnya semakin tinggi (Amic *et al.*, 2002).

Berdasarkan Nzaramba 2008 komponen fenolik merupakan terminator dari radikal bebas dan sebagai pengkelat ion logam redoks aktif. Ion logam ini memungkinkan peranannya untuk mengatalisis reaksi peroksidasi lipid. Antioksidan fenolik ini menghalangi oksidasi lipid dan molekul lain dengan cara mendonasikan atom hidrogen

ke senyawa radikal membentuk intermediet radikal fenoksil. Senyawa intermediet radikal fenoksil relatif stabil sehingga tidak mampu lagi menginisiasi reaksi radikal selanjutnya. Aktivitas biologis yang tinggi pada senyawa fenolik ini terletak pada posisi dan jumlah gugus -OH (Nzaramba, 2008). Belum diketahui jenis senyawa flavonoid dan fenolik dalam penelitian ini yang berperan dalam menurunkan kadar MDA.

Senyawa alkaloid, saponin dan triterpenoid diduga juga memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar MDA. Menurut Dinara 2007, senyawa alkaloid dapat bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada hepatic mikrosomal. Senyawa alkaloid, terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama. Senyawa alkaloid lain yang bersifat antioksidan adalah kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal hidroksil (Dinara *et al.*, 2007). Namun dalam penelitian ini belum dapat diketahui jenis alkaloid yang berperan dalam bioaktivitas antioksidan. Berdasarkan Lichuan 2009, triterpenoid secara potensial dapat menginduksi pengekspresian gen Nrf2 dan mengaktifkan *pathway* ARE (*Antioxidant Response Element*) dalam sel neuronal. Nrf2/ARE akan meregulasi lebih dari 200 gen termasuk gen antioksidatif (Lichuan *et al.*, 2009). Triterpenoid akan mengikat radikal HOO* yang dapat bereaksi secara cepat

dengan radikal lonoleilperoksil sehingga membawa reaksi menuju tahap terminasi (Grassman, 2005). Senyawa saponin dapat bertindak sebagai antioksidan dan memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas. Kemampuan senyawa saponin dapat menurunkan stress oksidatif pada tikus yang diinduksi aloksan (Ali *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun *P. cordifolia* dosis 200, 400 dan 600 mg/kg BB dapat menurunkan kadar MDA tikus yang terpapar asap rokok.

DAFTAR ACUAN

- Ali, Mat, M.S. (2008). Analysis of Phenolics and Other Phytochemicals in Selected Malaysian Traditional Vegetables and Their Activities *In Vitro*. Thesis. University of Glasgow.
- Alli Smith, Y.R., & Adanlawo, I.G. (2014). *In Vitro* and *In Vivo* Antioxidant Activity of Saponin Extracted from The Root of *Garcinia Kola* (Bitter Kola) on Alloxan-Induced Diabetic Rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(7), 8-26.
- Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N., & Davidovic. (2002). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatia Chemica Acta*, 6(1), 55-61.
- Bakar, F.A., Mohamed, S., Hamid, A.A.,

- & Mustafa, R.A. (2010). Total Phenolic Compounds, Flavonoids and Radical Scavenging Activity of 21 Selected Tropical Plants. *Journal of Food Science*, 75(1), 28-35.
- Balamurugan, M., Parthasarathi, K., Ranganathan, L.S., & Cooper, E.L. (2008). Hypothetical Mode of Action of Earthworm Extract With Hepatoprotective and Antioxidant Properties. *Journal of Zhejiang University Science, B*, 9, 141-147.
- Bradbury, S. (2008). *Registration Eligibility Decision for Nicotine*. Retrived from website: http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/nicotine_red.pdf
- Dewi, S., Budi, H., & Hendra, F. (2013). Penentuan Kadar Nikotin dalam Asap Rokok. *Makara Kesehatan*, 7(2), 38-41.
- Dinara, J.M., Marc, F.R., Jane, M.B., Joaõ, A.P.A.H., & Jenifer, S. (2007). Antioxidant Properties of β -Carboline Alkaloids are Related to Their Antimutagenic and Antigenotoxic Activities. *Mutagenesis*, 22(4), 293-302.
- Grassman, J. (2005). *Terpenoids as Plant Antioxidant*. Germany: Elsevier Inc.
- I Wayan, S., & I Made, J. (2012). Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Medicina*, 43(2), 67-70. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*. (2013). Diunduh dari website: http://www.litbang.depkes.go.id/sites/downloads/rkd2013/laporan_riskesdas2013.pdf
- Kevin, C.K., & Hannah, J.Z. (2006). An Integrated View of Oxidative Stress in Aging: Basic Mechanisms, Functional Effects, and Pathological Considerations. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative Comparative Physiology*, 292(1), 18-36.
- Konig, D., & Berg, A. (2002). Exercise and Oxidative Stress: Is there a Need for Additional Antioxidant. *Osterreichisches Journal Fur Sportmedizin*, 3, 6-15.
- Lichuan, Yang., Noel, Y. Calingasan., Bobby, Thomas., Rajnish, K.C., Mahmoud, Kiaei., Elizabeth, J.W., *et al.* (2009). Neuroprotective Effects of the Triterpenoid, CDDO Methyl Amide, a Potent Inducer of Nrf2-Mediated Transcription. *Plos One*, 6, 1-13.
- Momuat, L.I., Meiske, S.S., & Ni Putu Purwati. (2013). Pengaruh VCO Mengandung Ekstrak Wortel terhadap Peroksida Lipid Plasma. *Jurnal Ilmiah Sains*, 11(2), 296-301.
- Nagamma, T., Anjaneyulu, K., Baxi, J., & Dayaram, P.P. (2007). Effects of Cigarette Smoking on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Cancer Patients from Western Nepal. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(1), 313-316.
- Nzaramba, M.N. (2008). Relationships Among Antioxidants, Phenolics, and Specific Gravity in Potato Cultivars, and Evaluation of Wild Potato Species for Antioxidants, Glycoalkaloids, and Anti-Cancer Activity on Human Prostate and Colon Cancer Cells *In Vitro*. *Disertasi*.

- Texas A&M University.
- Omar, F.A., & Wasan, T.A. (2013). Effect of Cigarette Smoking on Lipid Peroxidation And Antioxidant Status in Iraqi Men at Baghdad City. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(1), 47-50.
- Rumley, A.G., Woodward, M., & Rumley, A. (2004). Plasma Lipid Peroxides: Relationships to Cardiovascular Risk Factors and Prevalent Cardiovascular Disease. *An International Journal of Medicine*, 97(12), 809-816.
- Sela, S., Shurtz-Swirski, R., Awad, J., Shapiro, G., Nasser, L., & Shasha, S.M. (2004). The Involvement of Peripheral Polymorphonuclear Leukocytes in the Oxidative Stress and Inflammation among Cigarette Smokers. *Israel Medical Association Journal*, 4(11), 1015-1019.
- Sembiring, Bagem Br, Ma'mun, Ginting EI. 2006. Pengaruh Kehalusan Bahan dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 17(2), 53-58.
- Somwanshi, D.S., Mahesh, B.M., Sandeep, G., Mahendra, B., & Sachin, B.I. (2013). Effect of Cigarette Smoking on Lipid Peroxidation In Semen. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*, 3(2), 289-294.
- Traber, M.G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, Antioxidant and Nothing More. *Free Radical biology and Medicine*, 43(1), 4-15.
- Van der Vaart., Postma, D.S., Timens, W., & Ten, Hacken, N.H.T. (2004). Accute Effect of Cigarette Smoke on Inflammation and Oxidative Stress: a Review. *Thorax*, 59, 713-721.
- World Health Organization. (2013). Retrived from WHO website: http://www.who.int/tobacco/surveillance/policy/country_profile/idn.pdf
- Wulansari, D., & Chairul. (2011). Penapisan Aktivitas Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal 2,2-Diphenyl-1 Picrylhydrazyl (DPPH). *Majalah Obat Tradisional*, 16(1), 22-25.
- Yagi, K. (1994). *Free Radical in Diagnostic Medicine*. New York: Plenum Pr.
- Yanbaeva, D.G., Dentener, M.A., Creutzberg, E.C., Wesseling. G., & Wouters, E.F. (2007). Systemic Effect of Smoking. *Chest*, 131(5), 1557-1566.
- Yueniwati, Y., & Ali, M. (2004). Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek terhadap Peroksidasi Lemak dan System Proteksi Superoksid Dismutase Hepar Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 12(1), 85-92.
- Yuhernita & Juniarti. (2011). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *MAKARA*, 15(1), 48-52.