



PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) MENCIT *Balb/c* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

SKRIPSI

Oleh :

Wahyu Wahidatur Rochmah

NIM 122210101011

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) MENCIT *Balb/c* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

SKRIPSI

diajukan untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

Wahyu Wahidatur Rochmah

NIM 122210101011

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Fatholla, Ibunda Towiyah dan Saudaraku Alvin Arifillah, serta keluargaku tercinta yang telah memberikan curahan kasih sayang, bimbingan, dukungan, nasihat, pengorbanan dan do'a yang senantiasa mengiringi setiap langkah bagi perjuangan dan keberhasilan penulis.
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga SMA, dosen, laboran dan segenap civitas akademika Universitas Jember khususnya Fakultas Farmasi, yang telah menjadi tempat naungan untuk menimba ilmu dan membimbing penulis dengan penuh kesabaran.
3. Teman-teman seperjuangan Farmasi 2012 dan almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah : 6)

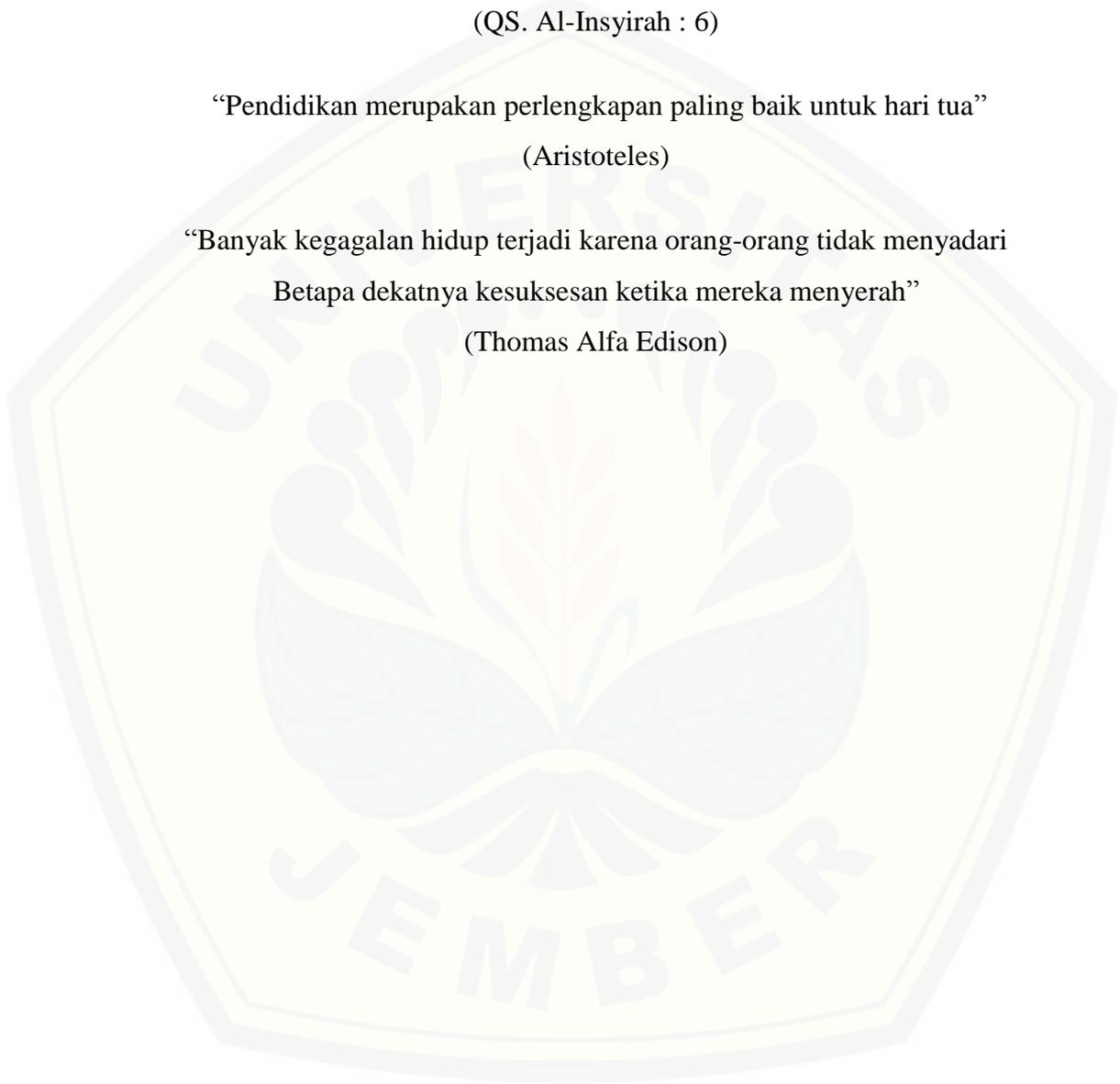
“Pendidikan merupakan perlengkapan paling baik untuk hari tua”

(Aristoteles)

“Banyak kegagalan hidup terjadi karena orang-orang tidak menyadari

Betapa dekatnya kesuksesan ketika mereka menyerah”

(Thomas Alfa Edison)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Wahyu Wahidatur Rochmah

NIM : 122210101011

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : “Pengaruh Pemberian Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Mencit *Balb/c* yang Dipapar Asap Rokok” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali pengutipan substansi yang telah disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pertanyaan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Januari 2017

Yang menyatakan,

Wahyu Wahidatur Rochmah

122210101011

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*)
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) MENCIT *Balb/c*
YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh :

Wahyu Wahidatur Rochmah

NIM 122210101011

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Mencit *Balb/c* yang Dipapar Asap Rokok” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Rabu, 18 Januari 2017

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198404062009122008

Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt.
NIP 197812212005012002

Tim Penguji :

Penguji I,

Penguji II,

Antonius Nugraha W.P, S.Farm., M.P.H., Apt.
NIP 198309032008121001

Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP.198403082008012003

Mengesahkan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Mencit *Balb/c* yang Dipapar Asap Rokok; Wahyu Wahidatur Rochmah; 122210101011; 2017; 69 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Merokok merupakan salah satu gaya hidup utama yang berpengaruh pada kesehatan manusia. Indonesia termasuk salah satu negara berkembang yang sebagian besar masyarakatnya mengkonsumsi rokok. Asap rokok mengandung berbagai bahan kimia antara lain nikotin, tar, karbon monoksida, karbon dioksida dimana senyawa-senyawa tersebut dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Jumlah radikal bebas di dalam tubuh yang melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid yang kemudian mengakibatkan kerusakan membran sel dan menghasilkan produk-produk akhir yang bersifat toksik terhadap sel seperti malondialdehid (MDA). Peningkatan kadar MDA dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa penting bagi tubuh yang berguna dalam menangkap radikal bebas dan mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh. Buah kurma merupakan salah satu sumber antioksidan. Ekstrak buah kurma diketahui memiliki aktivitas antioksidan seperti dapat menurunkan kadar MDA, menurunkan kadar radikal bebas superoksida dan hidroksil serta menghambat peroksidasi lemak dan oksidasi protein. Dewasa ini di pasaran, buah kurma banyak diproduksi dalam bentuk olahan sari buah kurma. Penelitian lebih lanjut untuk menguji aktivitas antioksidan sari buah kurma dalam menurunkan kadar MDA masih belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah kurma terhadap kadar MDA dalam plasma darah mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok.

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only-control group design*. Dua puluh empat ekor

mencit jantan *Balb/c* dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok normal (K_N), kontrol negatif (K₍₋₎), kontrol positif (K₍₊₎), perlakuan dosis I (K₁), perlakuan dosis II (K₂), dan perlakuan dosis III (K₃). Setiap hari, empat ekor mencit dalam tiap kelompok ditempatkan pada *smoking chamber* dan dipapar asap rokok satu batang/hari melalui *smoking pump*. Tiga puluh menit setelah pemaparan, K₍₋₎ diberikan akuades, K₍₊₎ diberikan vitamin C 60 mg/kgBB, K₁ diberikan sari buah kurma dosis 5 ml/kgBB, K₂ diberikan sari buah kurma dosis 10 ml/kgBB, dan K₃ diberikan sari buah kurma dosis 20 ml/kgBB secara per oral, sedangkan K_N dipapar dengan udara luar kemudian diberikan akuades. Pemaparan dan perlakuan dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 15, dilakukan pengambilan darah secara intraorbital setelah mencit dipuasakan selama 16 jam.

Kadar MDA ditentukan menggunakan test *Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS) yang berdasarkan pemeriksaan reaksi spektrofotometri UV-Vis. Dilakukan validasi metode analisis yang memberikan hasil masing-masing parameter yang diamati telah memenuhi persyaratan dan metode yang digunakan memberikan hasil yang valid. Berdasarkan hasil analisis *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan semua kelompok kecuali kelompok sari kurma dosis 5 ml/kgBB ($p = 0,191$). Kadar MDA plasma darah kontrol positif berbeda signifikan dengan sari kurma dosis 5 ml/kgBB, 10 ml/kgBB dan 20 ml/kgBB ($p = 0,021$) dan masing-masing kelompok sari kurma memberikan perbedaan yang signifikan antar kelompoknya ($p < 0,021$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian sari buah kurma dapat menurunkan kadar MDA plasma darah mencit yang dipapar asap rokok dan sari buah kurma dengan dosis 20 ml/kgBB paling efektif dalam menurunkan kadar MDA plasma darah mencit yang dipapar asap rokok.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: “Pengaruh Pemberian Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Mencit *Balb/c* yang Dipapar Asap Rokok”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa atas semua karunia yang telah diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember serta Dosen Pembimbing Akademik yang telah sabar dalam mengarahkan dan membimbing penulis selama menempuh studi;
3. Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Bapak Antonius Nugraha W.P, S.Farm., M.P.H., Apt. dan Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan, bimbingan, saran dan kritik kepada penulis selama menempuh studi;
6. Ayahanda Fatholla, Ibunda Towiyah dan Saudaraku Alvin Arifillah serta keluargaku tercinta yang telah memberikan curahan kasih sayang, bimbingan, dukungan, doa, dan segalanya yang tiada henti;

7. Mbak Indri dan Mbak Dini selaku teknisi di Laboratorium Farmasi Klinik atas segala bantuan yang diberikan untuk menyelesaikan penelitian ini;
8. Rekan kerja dalam penelitian ini, Radita dan Hawwin, yang telah memberikan bantuan, dukungan, semangat dan kerjasama terbaik dalam penelitian ini;
9. Sahabat-sahabatku, Wardatun, Nili, Amelya, Nunung, Kinan, Dessy, Nandin, Firoh, Adhe, Gilang, Amel, Aisma, Lili, Fitria, Adqinta, Citra, Taufik, Bayu dan Rizki atas segala doa, dukungan, bantuan, semangat, motivasi, saran dan masukan serta sharing pengalaman dengan penulis;
10. Sahabat-sahabat “kos Nakula 10” Bak Silvi, Ani, Kiki yang selalu menyemangati, memberikan bantuan dan motivasi, kebersamaan, saran dan masukan serta sharing pengalaman dengan penulis;
11. Keluarga besar Petrok Rolas FF UNEJ 2012 atas persaudaraan, semangat dan doa kalian, “Keep Spirit and Fighting”;
12. Guru-guruku yang terhormat mulai dari taman kanak-kanak sampai SMA atas ilmu dan pengetahuannya yang telah diberikan tanpa pamrih;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung atas bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, 18 Januari 2017

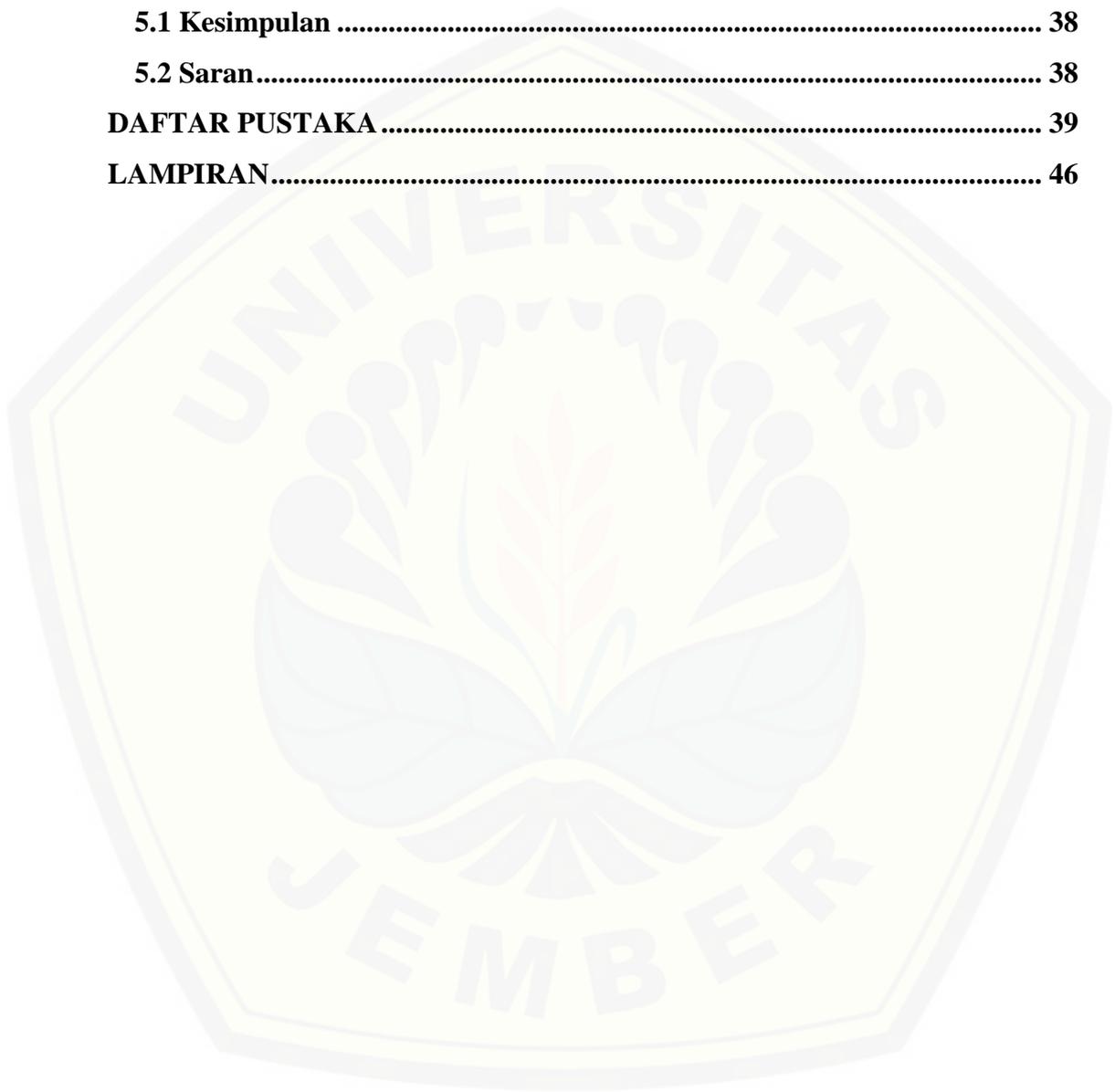
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Tentang Buah Kurma	5
2.1.1 Deskripsi Tanaman	5
2.1.2 Kandungan Kimia Buah Kurma	6
2.1.3 Penelitian Tentang Buah Kurma.....	6
2.2 Tinjauan Tentang Asap Rokok.....	7
2.2.1 Asap Rokok.....	7
2.2.2 Kandungan Kimia Dari Rokok	8
2.2.3 Perbedaan Rokok Kretek dan Rokok Putih	10
2.2.4 Hubungan Asap Rokok dan Stres Oksidatif	10

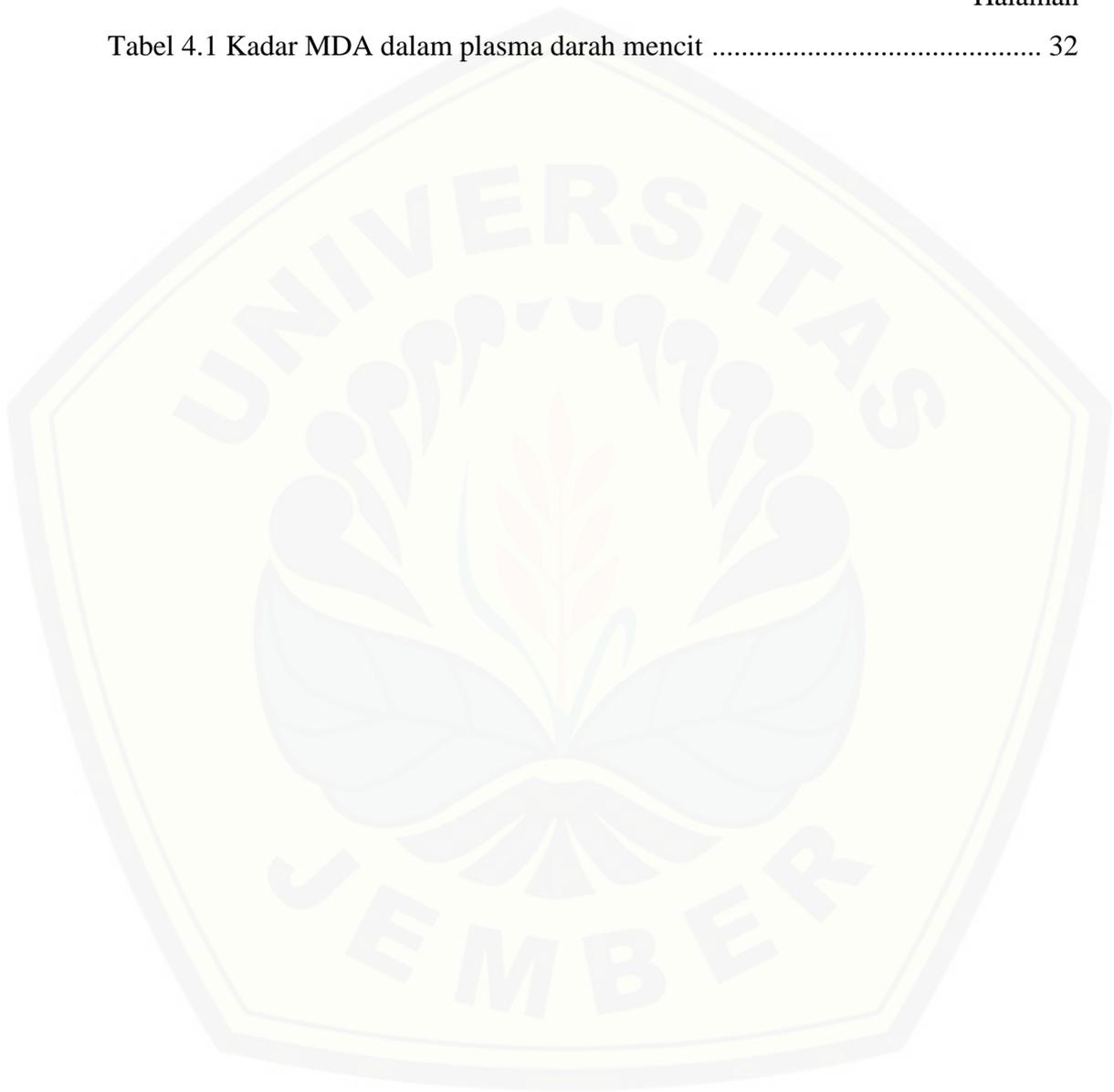
2.3 Tinjauan Tentang Radikal Bebas	12
2.3.1 Pengertian Radikal Bebas	12
2.3.2 Tahapan Pembentukan Radikal Bebas.....	13
2.3.3 Sifat-sifat Radikal Bebas	14
2.4 Tinjauan Tentang Antioksidan	15
2.4.1 Pengertian Antioksidan.....	15
2.4.2 Klasifikasi Antioksidan.....	15
2.4.3 Mekanisme Kerja Antioksidan	20
2.5 Tinjauan Tentang Malondialdehid	20
2.6 Tinjauan Tentang Metode TBARS.....	21
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.3 Rancangan Penelitian.....	23
3.4 Jumlah Sampel	24
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	25
3.5.1 Alat.....	25
3.5.2 Bahan	25
3.6 Variabel Penelitian	26
3.6.1 Variabel Bebas	26
3.6.2 Variabel Terikat	26
3.6.3 Variabel Terkendali	26
3.7 Definisi Operasional	26
3.8 Prosedur Penelitian	27
3.8.1 Penyiapan Hewan Coba	27
3.8.2 Pengenceran Sari Buah Kurma	27
3.8.3 Perlakuan Hewan Coba	27
3.8.4 Pengambilan Sampel Darah	28
3.8.5 Prosedur Pengukuran MDA	28
3.9 Analisis Data	29
3.10 Alur Penelitian.....	30

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Hasil dan Analisis Data	31
4.2 Pembahasan	33
BAB 5. PENUTUP	38
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	46



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Kadar MDA dalam plasma darah mencit	32



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Mekanisme reaksi berantai radikal peroksidasi lipid.....	11
Gambar 2.2. Pembentukan ROS melalui reaksi energi dan transfer elektron.....	15
Gambar 2.3. Reaksi TBA dengan 2-heksanol dan malonaldehid	22
Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian.....	23
Gambar 3.2. Kerangka kerja percobaan	30
Gambar 4.1. Kurva Linieritas	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Perhitungan Dosis Bahan Uji yang Diberikan pada Hewan Coba ..	46
Lampiran B. Perhitungan pengenceran bahan uji	47
Lampiran C. Perhitungan pengenceran TEP	48
Lampiran D. Validasi Metode.....	50
Lampiran E. Kadar MDA plasma darah mencit	55
Lampiran F. Hasil Analisis Data	56
Lampiran G. Dokumentasi	69

DAFTAR SINGKATAN

LOD	: <i>Limit of Detection</i>
LOQ	: <i>Limit of Quantitation</i>
MDA	: Malondialdehid
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TBA	: Thiobarbituric Acid
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid-reactive Substance</i>
TCA	: Trichloroacetic Acid
TEP	: Tetraethoxypropane

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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 termasuk salah satu negara berkembang yang sebagian besar masyarakatnya mengkonsumsi rokok. Menurut data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2008, Indonesia menempati urutan ketiga dengan jumlah perokok terbanyak di dunia setelah negara China dan India. Berdasarkan data Riskesdas (2013), perilaku merokok penduduk Indonesia umur ≥ 15 tahun cenderung meningkat dari 34,2% pada tahun 2007 menjadi 34,7% pada tahun 2010 dan semakin meningkat menjadi 36,3% pada tahun 2013, dengan proporsi perokok pria sebesar 64,9% dan wanita sebesar 2,1% serta anak usia 10-14 tahun sebesar 1,4% pada tahun 2013.

Asap rokok mengandung sekitar 4000 senyawa, antara lain nikotin; tar; 3,4-benzopiren; karbon monoksida; karbon dioksida; nitrogen oksida; amonia; sulfur dengan 200 lebih bahan bersifat racun dan 40 lebih bahan bersifat karsinogen atau menyebabkan kematian (Fowles & Bates, 2000). Senyawa-senyawa tersebut dapat berinteraksi dengan sel dalam tubuh dan menyebabkan terbentuknya radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron-elektron yang tidak berpasangan. Hal itu dapat menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dan akan mencapai kestabilan dengan menyerang molekul terdekat untuk mencari pasangan elektron. Jumlah radikal bebas di dalam tubuh yang melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001 dan Wijaya, 1996).

Stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid yang kemudian mengakibatkan kerusakan membran sel (Husen & Sastramihardja, 2012). Peroksidasi lipid merupakan suatu reaksi oksidasi berantai yang juga menghasilkan radikal bebas sehingga mencetuskan peroksidasi lebih lanjut

(Gitawati, 1995). Reaksi peroksidasi ini menyebabkan rantai asam lemak pada membran sel terputus menjadi berbagai senyawa menghasilkan produk-produk akhir yang bersifat toksik terhadap sel berupa senyawa dialdehida seperti malondialdehid (MDA) yang merupakan produk peroksidasi lipid utama (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Kadar MDA dalam darah bisa dijadikan sebagai indikator kerusakan oksidatif dan sekaligus sebagai indikator keberadaan radikal bebas di dalam tubuh (Burlakova *et al.*, 2010). Peroksidasi lipid membran dapat ditentukan secara tidak langsung dengan mengukur kadar MDA menggunakan *Test Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS) yang berdasarkan pemeriksaan reaksi spektrofotometrik (Winarsi, 2007). Semakin tinggi kadar MDA dalam tubuh maka semakin tinggi pula reaksi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh dalam tubuh. Peningkatan kadar MDA dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan (Gitawati, 1995).

Antioksidan merupakan senyawa penting bagi tubuh yang berguna dalam menangkap radikal bebas dan mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh, dengan memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Winarsi, 2007). Secara alami tubuh memiliki mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas yakni dengan menghasilkan antioksidan endogen seperti vitamin E, vitamin C, *tripeptide glutathione* dan lain-lain (Dungir *et al.*, 2012). Namun, peningkatan radikal bebas yang berlebihan menyebabkan ketidakseimbangan antara oksidan dengan antioksidan yang ada di dalam tubuh. Jika antioksidan yang ada dalam tubuh tidak dapat menetralkan radikal bebas maka kelebihan radikal bebas sangat potensial menyebabkan kerusakan sel (Dungir *et al.*, 2012). Hal ini menyebabkan tubuh kita memerlukan antioksidan eksogen untuk membantu mengurangi efek tersebut, salah satunya dengan menggunakan tanaman yang berkhasiat sebagai antioksidan.

Sebagian besar sumber antioksidan alami terdapat dalam tanaman yang mengandung senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tanaman, baik di kayu, biji, daun, buah, akar, dan bunga. Senyawa fenolik seperti flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas (Marliana,

2012). Salah satu tanaman sumber antioksidan adalah tanaman kurma (*Phoenix dactylifera*). Bagian yang sering dikonsumsi dari tanaman kurma adalah buahnya.

Berdasarkan penelitian Saafi *et al.* (2011), kurma jenis Deglet Nour yang diekstraksi dengan aquadest terbukti memiliki efek yang sama dengan vitamin C yaitu secara signifikan dapat menurunkan MDA tikus yang telah diinduksi dengan dimetoat. Penelitian lain yang dilakukan oleh Mohammed & Al-Okbi (2004), menyebutkan bahwa kandungan vitamin C dan E, β -karoten, dan retinol yang tinggi pada ekstrak metanol kurma Zaghloom dapat menurunkan kadar MDA tikus yang mengalami stress oksidatif. Menurut Vayalil (2002) ekstrak air buah kurma dapat menurunkan kadar radikal bebas superoksida dan hidroksil hingga 50% dari konsentrasi awal. Ekstrak ini juga dapat menghambat 50% peroksidasi lemak dan oksidasi protein.

Beberapa penelitian di atas menunjukkan bahwa ekstrak buah kurma memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan dapat menurunkan kadar MDA. Dewasa ini di pasaran, buah kurma banyak diproduksi dalam bentuk olahan sari buah kurma. Dalam bentuk sediaan ini, sari kurma lebih praktis pembuatannya dibandingkan ekstrak kurma, sehingga setiap orang dapat membuatnya sendiri.

Menurut penelitian Hardinsyah *et al.* (2013), sari buah kurma mempunyai kapasitas total antioksidan sebesar 752,9 $\mu\text{g ascorbic acid equivalent antioxidant (AAE)/g}$ yang setara dengan 753 kali aktivitas antioksidan vitamin C. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa sari buah kurma memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Namun, penelitian lebih lanjut untuk menguji aktivitas antioksidan sari buah kurma dalam menurunkan kadar MDA masih belum dilakukan. Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah kurma terhadap kadar MDA dalam plasma darah mencit *Balb/c* setelah mendapat paparan asap rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian sari buah kurma dapat berpengaruh terhadap kadar MDA dalam plasma darah mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok ?
2. Bagaimana pengaruh pemberian sari buah kurma dosis 5, 10 dan 20 ml/kgBB terhadap kadar MDA dalam plasma darah mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk menentukan pengaruh pemberian sari buah kurma terhadap kadar MDA dalam plasma darah mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok.
2. Untuk menentukan pengaruh pemberian sari buah kurma dosis 5, 10 dan 20 ml/kgBB terhadap kadar MDA dalam plasma darah mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait potensi sari buah kurma dalam pengembangan produk herbal sebagai pencegahan meningkatnya kadar MDA akibat paparan asap rokok dan dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Buah Kurma

2.1.1 Deskripsi Tanaman

Buah Kurma atau *Phoenix dactylifera* merupakan salah satu komoditi pertanian yang penting di Afrika Utara, Timur Tengah, dan negara-negara Asia. Kurma dikenal sebagai makanan pokok yang kaya nutrisi dan dari beberapa tahun yang lalu. Menurut Integrated Taxonomic Information System (2010), taksonomi dari buah kurma adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Orde	: Arecales
Famili	: Arecaceae
Genus	: Phoenix L.
Species	: <i>Phoenix dactylifera</i> L.

Buah kurma adalah tumbuhan berumah dua yang memiliki tinggi sekitar 16-20 meter dan tidak memiliki cabang pada batangnya. Batang pohon kurma terbuat dari serat selulosa yang kuat dan dapat digunakan dalam pembuatan triplek. Pohonnya memiliki mahkota terminal dengan 30-150 daun. Daunnya menyirip dengan panjang 6 meter dan dapat bertahan selama 3 hingga 7 tahun, menyangga 120-240 lembar pucuk daun muda. Daun tumbuh dari tunas terminal pada tandan yang berkesinambungan dimana setiap tandan terdiri dari 3 atau 5 daun-daun yang tersusun secara spiral (Al-Shahib & Marshall, 2003).

Dalam perkembangannya secara morfologis, bunga jantan dan betina sulit untuk dibedakan. Buah kurma berbentuk bundar kecil berbiji satu dengan epikarp yang bertekstur halus, mesokarp berdaging dan membran endokarp yang berwarna perak. Bijinya berbentuk memanjang yang sebagian besar terdiri dari

hemiselulosa dengan lekukan memanjang yang mencolok disatu sisi dan tonjolan bulat kecil disisi lain (Al-Shahib & Marshall, 2003).

Secara umum ada 12-13 spesies dalam genus Phoenix. Spesies liar Phoenix ditemukan di daerah tropis dan sub tropis Afrika dan Asia sementara *Phoenix dactylifera* berasal dari India dan Irak (Ataga *et al.*, 2012). Buah kurma telah menjadi makanan pokok di Timur Tengah selama ribuan tahun. Orang-orang Timur Tengah percaya bahwa kurma dapat menghilangkan rasa sakit. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan kalium dan asam salisilat yang berfungsi sebagai antinyeri (Satuhu, 2010).

2.1.2 Kandungan Kimia Buah Kurma

Kurma tergolong sebagai sumber karbohidrat terbesar dimana tersusun atas gula-gula sederhana seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa. Kurma merupakan sumber terbaik serat dan beberapa mineral penting seperti besi, potassium, selenium, kalsium, magnesium, fosfor, folat, dan vitamin seperti vitamin E, C, B1, B2, A, riboflavin dan niasin, tetapi rendah lemak dan protein. Buah kurma mengandung senyawa antioksidan, yaitu senyawa fenolik, flavonoid dan vitamin C (Primurdia & Kusnadi, 2014). Berdasarkan Al-Shahib & Marshall (2003), kurma mengandung karbohidrat persentase tinggi (total gula, 44-88%), lemak (0,2-0,5%), 15 jenis garam dan mineral, protein (2,3-5,6%), vitamin dan serat persentase tinggi (6,4-11,5%). Daging kurma mengandung 0,2-0,5% minyak, sedangkan bijinya mengandung 7,7-9,7% minyak. Oleh karena itu, buah kurma merupakan sumber energi yang tinggi dan diperkirakan 100 gram daging buah kurma dapat memberikan 314 kkal energi.

2.1.3 Penelitian Tentang Buah Kurma

Menurut Vyawahre *et al.* (2009), kurma diketahui memiliki beragam aktivitas biologis seperti antioksidan, antiulkus, antikanker, antidiare, efek pada gastrointestinal, hepatoprotektif, antimutagenik, efek pada sistem reproduksi,

antiinflamasi, antivirus, antihemolitik, antihiperlidemik, dan nefroprotektif. Berdasarkan penelitian Saafi *et al.* (2011), kurma jenis Deglet Nour yang diekstraksi dengan aquadest terbukti memiliki efek yang sama dengan vitamin C yaitu secara signifikan dapat menurunkan MDA tikus yang telah diinduksi dengan dimetoat. Penelitian lain yang dilakukan oleh Mohammed & Al-Okbi (2004), menyebutkan bahwa kandungan vitamin C dan E, β -karoten, dan retinol yang tinggi pada ekstrak metanol kurma Zaghlool dapat menurunkan kadar MDA tikus yang mengalami stress oksidatif. Menurut Vayalil (2002) ekstrak air buah kurma dapat menurunkan kadar radikal bebas superoksida dan hidroksil hingga 50% dari konsentrasi awal. Ekstrak ini juga dapat menghambat 50% peroksidasi lemak dan oksidasi protein. Zen *et al.* (2013) menyatakan bahwa sari buah kurma dapat meningkatkan kadar hemoglobin pada dosis 1,6 ml/200 g BB tikus. Penelitian tersebut selanjutnya digunakan sebagai acuan dalam penentuan dosis pada penelitian ini yang dijelaskan lebih lanjut pada lampiran A.

2.2 Tinjauan Tentang Asap Rokok

2.2.1 Asap Rokok

Merokok dapat menyebabkan berbagai macam gangguan kesehatan, baik pada perokok itu sendiri maupun pada orang lain di sekitarnya. Telah diinformasikan bahwa setiap delapan detik satu orang meninggal karena rokok. Namun demikian, jumlah perokok di negara berkembang terus meningkat walaupun di negara maju telah mengalami penurunan (Yanbaeva *et al.*, 2007).

Asap rokok dapat dibagi menjadi 2 yaitu asap primer dan asap sekunder. Asap primer adalah asap yang langsung dihirup perokok (perokok aktif) melalui mulut, sedangkan asap sekunder adalah asap rokok yang terbentuk pada ujung rokok dan asap rokok yang dihembuskan ke udara oleh perokok. Asap sekunder mempunyai kadar racun yang jauh lebih tinggi dari asap primer dan akibat yang timbul pada orang yang terus menerus terpapar asap rokok (perokok pasif) tidak berbeda dengan perokok aktif (Ryan *et al.*, 2012).

Asap rokok mengandung lebih dari 4.000 komponen kimia, di antaranya adalah radikal bebas dan oksidan dalam konsentrasi tinggi. Radikal bebas dari asap rokok berasal dari dua fase yang berbeda, yang pertama berasal dari fase partikel asap rokok dan yang kedua berasal dari fase gas asap rokok (Misra *et al.*, 2003) yang dapat merusak DNA, membran dan makromolekul sel-sel (Burlakova *et al.*, 2010). Komponen gas asap rokok adalah karbon monoksida, karbon dioksida, amoniak, asam hidrosianat, nitrogen oksida dan formalin. Partikelnya berupa tar, nikotin, nitrosamin dan lain-lain (Fowles and Bates, 2000).

Radikal bebas yang terdapat dalam tar merupakan radikal bebas yang relatif stabil, antara lain *qinon* (Q), *semiqinon* (QH'), dan *hydroqinon* (QH₂). Fase gas asap rokok mengandung radikal oksigen dan karbon yang jauh lebih reaktif dibandingkan dengan fase tar. Radikal fase gas tidak timbul dari api rokok, tetapi muncul pada saat oksidasi nitrit oksida (NO) di udara menjadi nitrogen dioksida (NO₂) yang akan bereaksi dengan spesies reaktif dalam rokok seperti isopren. NO₂ dan oksigen (O₂) akan segera bereaksi membentuk molekul peroksinitrit (ONOO₂) yang sangat reaktif (Misra *et al.*, 2003, dan Rahimah *et al.*, 2010).

Paparan asap rokok merupakan salah satu faktor utama meningkatnya radikal bebas dalam tubuh, adapun penyebab lainnya seperti sinar UV, asap kendaraan, asap pabrik dan lain sebagainya. Proses tersebut akan menghasilkan ROS berlebih yang merupakan oksidan utama dalam tubuh (Yanbaeva *et al.*, 2007).

2.2.2 Kandungan Kimia Dari Rokok

Rokok mengandung berbagai bahan kimia antara lain nikotin, karbon monoksida, tar dan eugenol (dalam rokok kretek). Asap rokok merupakan campuran senyawa yang mengandung lebih dari 4000 bahan kimia dimana 200 lebih bahan bersifat racun dan 40 lebih bahan bersifat karsinogen atau menyebabkan kematian (Fowles & Bates, 2000). Asap rokok mengandung 10¹⁴⁻¹⁶ molekul oksidan seperti superoksida anion (O₂^{•-}), hidrogen peroksida (H₂O₂), radikal hidroksil (•OH) dan radikal peroksil (•ROO) dalam satu kali hisapan

(Yanbaeva *et al.*, 2007). Asap yang dilepaskan ke udara lebih berbahaya karena kandungan nikotin yang lebih tinggi (4-6 kali) dibandingkan asap rokok yang dihisap oleh perokok. Dalam satu kali hisap, perokok memasukkan kurang lebih 10^{16} molekul radikal bebas dan berbagai bahan kimia tar, asbestos, H_2O_2 , dan lain-lain ke dalam tubuhnya (Dewi *et al.*, 2013). Kandungan zat beracun dalam rokok diantaranya:

1. Nikotin, ialah alkaloid dalam asap rokok yang lama kelamaan akan terakumulasi pada dinding pembuluh darah perokok dan menyempitkan pembuluh darah (Fidrianny *et al.*, 2004). Nikotin adalah zat yang paling sering dibicarakan dan diteliti orang, karena nikotin dapat meracuni saraf tubuh, meningkatkan tekanan darah, menimbulkan penyempitan pembuluh darah tepi serta menyebabkan ketagihan dan ketergantungan pada pemakainya. Kadar nikotin 4-6 mg yang dihisap oleh orang dewasa setiap hari sudah bisa membuat seseorang ketagihan untuk merokok. Efisiensi absorpsi nikotin dari paru-paru ke dalam darah hampir sama dengan nikotin yang diberikan secara intravena pada suatu individu (Fidrianny *et al.*, 2004).
2. Timah hitam (Pb) yang dihasilkan sebatang rokok sebanyak 0,5 μg . Sebungkus rokok yang habis dihisap dalam 1 hari menghasilkan 10 μg Pb. Sementara ambang batas Pb yang masuk ke tubuh adalah 20 μg /hari.
3. Gas karbonmonoksida (CO) memiliki kecenderungan yang kuat untuk berikatan dengan hemoglobin dalam sel-sel darah merah. Seharusnya hemoglobin ini berikatan dengan oksigen yang sangat penting untuk pernafasan sel-sel tubuh, tetapi karena afinitas gas CO terhadap hemoglobin lebih kuat daripada O_2 sehingga akan terbentuk ikatan hemoglobin-CO lebih banyak.
4. Tar, adalah komponen dari beribu-ribu bahan kimia dalam komponen-komponen padat asap rokok dan bersifat karsinogen. Pada saat rokok dihisap, tar masuk ke dalam rongga mulut sebagai uap. Setelah dingin akan menjadi padat dan membentuk endapan berwarna coklat pada permukaan gigi, saluran pernafasan dan paru-paru. Pengendapan ini bervariasi antara 3-40 mg per

batang rokok, sementara kadar tar dalam rokok berkisar 24-45 mg (Fidrianny *et al.*, 2004).

2.2.3 Perbedaan Rokok Kretek dan Rokok Putih

Rokok kretek adalah rokok dengan atau tanpa filter yang menggunakan tembakau rajangan dicampur dengan cengkeh rajangan, digulung dengan kertas sigaret, boleh memakai bahan tambahan kecuali yang tidak diizinkan. Rokok kretek dicirikan oleh bau dan rasanya yang khas serta bunyi mengeretek dari hasil pembakaran cengkeh yang terkandung dalam rokok kretek. Sedangkan rokok putih yaitu rokok dengan bahan baku hanya dari daun tembakau yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu (Soetiarto, 1995).

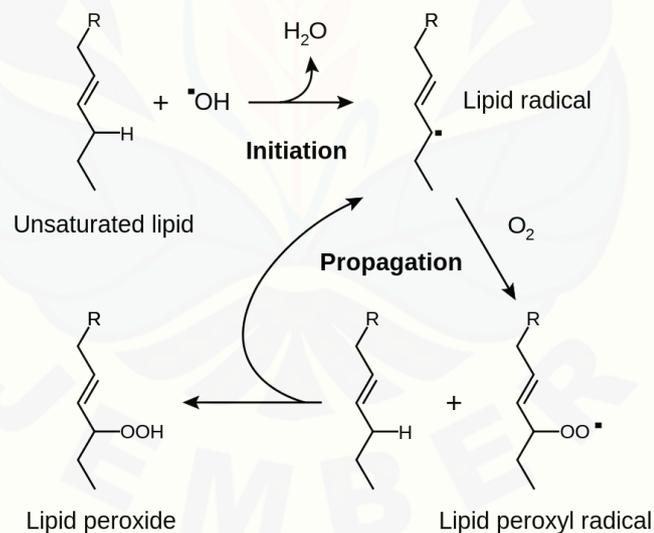
Dalam penelitian ini digunakan rokok kretek karena rokok kretek memiliki kemampuan memicu radikal bebas yang lebih kompleks dari pada rokok putih, hal ini terbukti dari tingkat peroksidasi lipid akibat rokok kretek yang lebih tinggi dibandingkan peroksidasi lipid akibat rokok putih. Diketahui pula bahwa jenis rokok yang diproduksi di Indonesia tergolong unik, rokok kretek jauh lebih dominan daripada rokok putih yang sebenarnya relatif kecil risikonya terhadap gangguan kesehatan (Yuningtyaswari, 2002).

2.2.4 Hubungan Asap Rokok dan Stres Oksidatif

Radikal bebas yang berasal dari asap rokok masuk ke dalam paru melalui saluran nafas, kemudian dibawa oleh aliran darah menuju ke jantung dan diedarkan ke seluruh tubuh (Guyton & Hall, 1997). Banyaknya paparan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, menyebabkan enzim yang terdapat di dalam tubuh tidak mampu meredam semua efek radikal bebas. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya stress oksidatif, yaitu suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001). Meningkatnya stres oksidatif bukan hanya

melalui produksi radikal bebas dalam tar rokok dan asap rokok tetapi juga melalui penurunan sistem pertahanan antioksidan (Burlakova *et al.*, 2010).

Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Husen & Sastramihardja, 2012). Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lebih lanjut (Gitawati, 1995). Radikal bebas menyerang membran plasma yang terdiri dari komponen lipid dan komponen protein. Komponen lipid akan mengalami peroksidasi dengan cara menarik atom H dari rantai samping *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA), menghasilkan radikal karbon. Kemudian radikal karbon akan bereaksi dengan oksigen menjadi radikal peroksil, inilah yang menyerang ulang rantai samping PUFA menghasilkan radikal karbon baru dan peroksida lipid. Reaksi ini akan berlangsung terus secara berantai dan berakhir bila bertemu dengan radikal bebas lain atau dengan antioksidan (Halliwell & Gutteridge, 2007 dan Orrenius, 1993).



Gambar 2.1. Mekanisme reaksi berantai radikal peroksidasi lipid (Vickers *et al.*, 2001)

Hal penting dari peroksidasi lipid adalah meningkatnya permeabilitas membran dan mengganggu distribusi ion-ion yang mengakibatkan kerusakan fungsi sel dan organ (Devlin, 2002). Radikal lipid yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi lipid dan lipid peroksida sehingga

akan terjadi peningkatan kadar MDA akibat adanya paparan asap rokok (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Terdapat hubungan antara lama pemaparan rokok dengan peningkatan kadar MDA (Yueniwati & Ali, 2004). Penggunaan rokok dalam waktu yang lama dapat menyebabkan ketidakseimbangan oksidan-antioksidan sistemik yang ditandai dengan adanya hasil dari peroksidasi lipid yaitu MDA. Rokok dapat meningkatkan kadar MDA secara signifikan pada perokok pasif dan perokok aktif baik terhadap hewan uji tikus maupun manusia (Omar & Wasan, 2013).

2.3 Tinjauan Tentang Radikal Bebas

2.3.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom molekul yang memiliki kereaktifan tinggi, hal ini dikarenakan adanya elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini sangat reaktif karena dapat mencetuskan reaksi berantai dengan mengekstraksi sebuah elektron dari molekul disekitarnya untuk melengkapi orbitalnya sendiri (Wijaya, 1996). 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) (Kevin & Hannah, 2006). Sumber radikal bebas dapat berasal dari sisa hasil metabolisme tubuh dan dari luar tubuh seperti makanan, sinar UV, polutan dan asap rokok (Yanbaeva *et al.*, 2007).

Menurut Sholihah & Widodo (2008), secara sederhana, radikal bebas sering disebut produk oksigen yang tereduksi secara parsial, karena berpotensi untuk menghasilkan reaksi radikal dalam sistem biologis. Radikal bebas dalam kadar yang normal sangat diperlukan oleh tubuh untuk kelangsungan beberapa proses fisiologis, terutama untuk transportasi elektron, namun radikal bebas yang berlebihan dapat membahayakan tubuh karena oksidasi yang berlebihan terhadap asam nukleat, protein, lemak dan sel DNA, sehingga dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi, kanker,

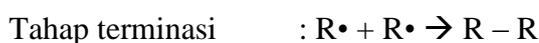
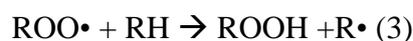
dan kerusakan makromolekul yang mengakibatkan terjadinya kematian sel (Winarsi, 2007).

Radikal bebas yang berlebih dapat disebabkan dua faktor, yaitu faktor dari dalam (internal) dan faktor dari luar (eksternal). Faktor dari dalam timbul dari tubuh manusia yang disebabkan karena stres dan penyakit yang diderita seperti diabetes mellitus dan hiperkolesterolemia, sedangkan faktor dari luar timbul karena aktivitas manusia dalam kehidupan sehari-hari, yaitu asap rokok, makanan yang digoreng dan dibakar, paparan sinar matahari berlebih, obat-obatan tertentu, racun, dan polusi (Winarsi, 2007).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada sel melalui tiga reaksi yaitu: (1) Peroksidasi lipid membran, ikatan ganda pada lemak tak jenuh (*polyunsaturated lipid*) membran mudah terkena serangan radikal bebas berasal dari oksigen. Interaksi radikal lemak menghasilkan peroksida yang tidak stabil dan reaktif dan terjadi reaksi rantai autokatalitik. (2) Fragmentasi DNA, reaksi radikal bebas dengan timin pada DNA mitokondria dan nuklear menimbulkan rusaknya untai tunggal. Kerusakan DNA tersebut telah memberikan implikasi pada pembunuhan sel dan perubahan sel menjadi ganas. (3) Ikatan silang protein, radikal bebas mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai sulfhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatik. Reaksi radikal bebas juga bisa secara langsung menyebabkan fragmentasi polipeptida (Kumar, 2005).

2.3.2 Tahapan Pembentukan Radikal Bebas

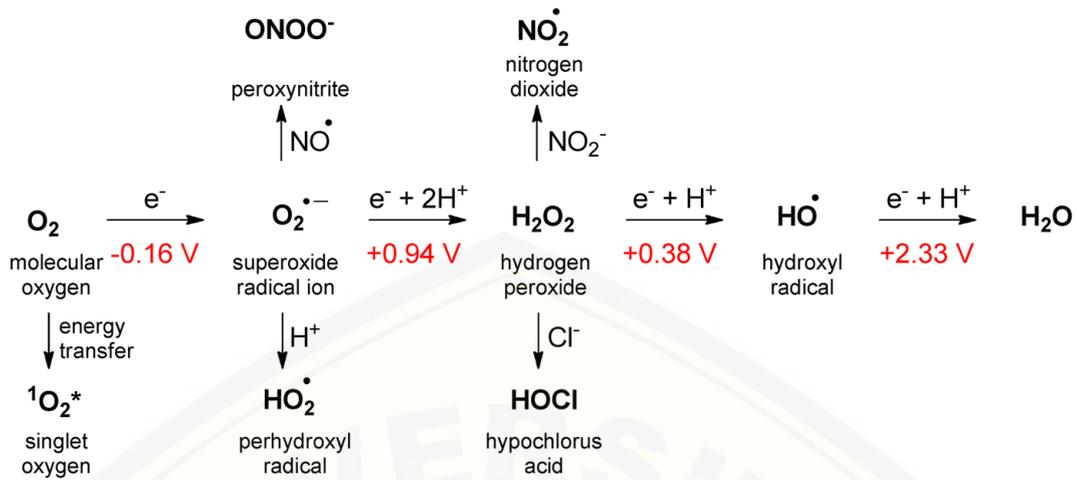
Reaksi berantai pada radikal bebas terdiri dari tiga tahap, yaitu:



Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas ($R\bullet$) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan adanya cahaya, oksigen atau panas (reaksi 1). Pada tahap propagasi, radikal ($R\bullet$) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil ($ROO\bullet$) (reaksi 2). Radikal peroksil selanjutnya akan menyerang RH (misalnya pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru (reaksi 3). Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida ($RCOH$) dan keton ($RCOR$). Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga antar radikal bebas dapat saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks (reaksi 4) (Wong, 1989).

2.3.3 Sifat-sifat Radikal Bebas

Radikal bebas memiliki dua sifat, yakni reaktivitas tinggi, karena kecenderungannya menarik elektron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal (Halliwell & Gutteridge, 2007). Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Jadi sama halnya dengan oksidan, radikal bebas adalah penerima elektron. Itulah sebabnya dalam kepustakaan kedokteran, radikal bebas digolongkan dalam oksidan. Namun perlu diingat bahwa radikal bebas adalah oksidan tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas (Suryohusodo, 2000 ; Halliwell & Gutteridge, 2007). Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan oksidan yang bukan radikal. Hal ini disebabkan karena kedua sifat radikal bebas diatas memiliki reaktivitas yang tinggi dan kecenderungan membentuk radikal baru, yang pada gilirannya nanti apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai. Diantara senyawa-senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktivitasnya sangat tinggi (Halliwell & Gutteridge, 2007).



Gambar 2.2. Pembentukan ROS melalui reaksi energi dan transfer elektron (Krumova & Cosa, 2016)

2.4 Tinjauan Tentang Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat proses oksidasi dari radikal bebas. Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, sedangkan dalam pengertian biologis antioksidan merupakan molekul atau senyawa yang dapat meredam aktivitas radikal bebas dengan mencegah oksidasi sel (Sudaryanti, 1999). Secara umum, antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya (pemberi atom hidrogen) kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai, dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang stabil (Inggrid & Santoso, 2014).

2.4.2 Klasifikasi Antioksidan

Secara normal tubuh manusia memiliki sistem pelindung yang luas berupa antioksidan alamiah atau antioksidan endogen seperti glutathion dan sistein yang berfungsi dalam mengendalikan radikal bebas. Namun, tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka dibutuhkan antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen adalah

antioksidan yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan didapat melalui buah-buahan, sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian dan beberapa daging, unggas dan ikan. Makanan-makanan tersebut mengandung vitamin E, Vitamin C, beta karoten dan flavonoid (Sunarni *et al.*, 2007).

Antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxidases (GPx) dan glutathione reductase (GRx). Antioksidan vitamin meliputi alfa tokoferol (vitamin E), beta karoten dan asam askorbat (vitamin C). Antioksidan vitamin lebih dikenal sebagai antioksidan dibandingkan antioksidan enzim. Antioksidan yang termasuk ke dalam vitamin dan fitokimia adalah flavonoid (Hamid, 2010).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat digolongkan menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik.

a. Antioksidan alami

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya. Antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan mengandung Vitamin C, vitamin E, polienol, karoten, bioflavonoid, katekin dan resveratol, senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam organik polifungsional (Isnindar *et al.*, 2011). Berikut adalah beberapa contoh antioksidan alami, diantaranya:

1) Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat adalah antioksidan monosakarida yang ditemukan pada tumbuhan. Vitamin C adalah komponen yang dapat mengurangi dan menetralkan oksigen reaktif, seperti hidrogen. Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat mengurangi peluang terjadinya berbagai macam penyakit akibat radikal bebas. Juga telah diketahui bahwa vitamin C dapat meregenerasi vitamin E secara efektif meskipun vitamin C bekerja pada sitoplasma dan vitamin E bekerja pada membran sel (Muliarta *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian Panda (2000) menunjukkan bahwa dosis vitamin C 15 mg/g BB pada hewan coba

marmut dapat mencegah kerusakan oksidatif utama seperti degradasi oksidatif protein dan peroksidasi lipid yang disebabkan oleh paparan asap rokok. Penelitian tersebut selanjutnya digunakan sebagai acuan dalam penentuan dosis vitamin C pada penelitian ini yang dijelaskan lebih lanjut pada lampiran A.

2) Vitamin E

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan memiliki sifat antioksidan, diantara vitamin E yang paling banyak dipelajari adalah β tokoferol karena memiliki ketersediaan hayati yang tinggi. Vitamin E dapat ditemukan pada kacang-kacangan, minyak sayur, minyak gandum, dan sayuran hijau (Muliartha *et al.*, 2009).

3) Polifenol (fenolik)

Polifenol merupakan salah satu kelompok yang paling banyak terdapat dalam buah-buahan, sayuran, tanaman polongan, biji-bijian, teh, rempah-rempah dan anggur. Ribuan molekul telah teridentifikasi dalam tanaman yang memiliki struktur polifenol (yaitu, adanya beberapa gugus hidroksil pada cincin-cincin aromatik). Molekul-molekul tersebut merupakan metabolit sekunder dari tanaman dan pada umumnya terlibat dalam mekanisme pertahanan terhadap radiasi ultraviolet atau agregasi dari patogen-patogen (Manach *et al.*, 2004).

Polifenol dapat dibagi dalam beberapa kelompok sebagai fungsi dari jumlah cincin fenolnya dan elemen-elemen struktural yang mengikat cincin-cincin tersebut satu sama lain, yaitu sebagai kelompok asam fenolik (Phenolic acid), flavonoids, stilbenes, dan lignans (Manach *et al.*, 2004).

4) Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dimiliki oleh sebagian besar tumbuhan hijau dan biasanya terkonsentrasi pada biji, buah, kulit buah, kulit kayu, daun, dan bunga. Senyawa flavonoid yang paling banyak terdapat di alam adalah flavonol, flavon, flavon-3-ol, isoflavon, flavanon, antosianidin dan proantosianidin (Zuhra *et al.*, 2008).

Flavonoid adalah antioksidan eksogen yang telah terbukti bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif (Wayan & Made, 2012). Senyawa flavonoid berperan dalam penghambatan peroksidasi lipid karena mampu menangkap radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogennya dari gugus OH kepada radikal bebas, sehingga reaksi antara radikal bebas dengan lemak tak jenuh menjadi berkurang bahkan tidak terjadi lagi (Hardi *et al.*, 2013). Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada posisi gugus dan jumlah dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas anti radikalnya semakin tinggi (Amic *et al.*, 2002).

Mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah menangkap radikal bebas secara langsung, mencegah regenerasi radikal bebas dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim (Hardiningtyas *et al.*, 2014). Pencegahan terbentuknya radikal bebas oleh flavonoid dilakukan dengan beberapa cara, yaitu dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga menetralkan efek toksik dari radikal bebas serta meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen (Wayan & Made, 2012). Flavonoid berubah menjadi radikal fenoksil flavonoid (FIO) saat menyumbangkan atom hidrogennya. Radikal bebas akan menyerang radikal fenoksil flavonoid yang pertama sehingga akan terbentuk radikal fenoksil flavonoid yang kedua. Radikal fenoksil flavonoid yang kedua dapat menstabilkan strukturnya dengan delokalisasi karena memiliki ikatan rangkap terkonjugasi sehingga efek radikal menjadi hilang (Hardi *et al.*, 2013). Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat kerja enzim *xantin oksidase* dan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH) oksidase*, serta mengkelat logam (Fe^{2+} dan Cu^{2+}) sehingga dapat mencegah reaksi redoks yang dapat menghasilkan radikal bebas (Atmani *et al.*, 2009).

5) Triterpenoid / Steroid

Triterpenoid atau steroid merupakan senyawa yang memiliki peranan sebagai antioksidan. Menurut Topcu *et al.* (2007), mekanisme antioksidan dari triterpenoid adalah dengan cara menangkap spesies reaktif, misalnya superoksida, dan mengkelat logam (Fe^{2+} dan Cu^{2+}). Triterpenoid dapat menghambat peroksidasi lipid pada tahap inisiasi dengan menghambat radikal peroksil serta di tahap akhir dengan menghambat produk sekunder, misalnya malondialdehid. Triterpenoid dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 sehingga proses peroksidasi lipid akibat radikal bebas dapat dicegah (Ghosh *et al.*, 2010).

6) Glutation

Glutation adalah molekul yang sangat kecil dan merupakan antioksidan yang paling penting karena berada di dalam sel, molekul ini mampu menetralkan radikal bebas, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan membantu hati mengeluarkan racun dalam tubuh, glutathione sering disebut “master antioksidan” karena berfungsi sebagai regulator dan regenerasi dari kekebalan sel dan agen detoksifikasi yang paling berharga dalam tubuh manusia, rendahnya tingkat glutathione dalam tubuh erat kaitannya dengan disfungsi hati, disfungsi kekebalan tubuh, penyakit jantung, penuaan dini, dan kematian. Glutation dapat ditemukan pada susu kambing, alpukat, asparagus, peterseli, dan brokoli (Ingrid & Santoso, 2014).

b. Antioksidan sintetik

Antioksidan sintetik, merupakan senyawa antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis dalam industri secara besar-besaran. Senyawa antioksidan sintetik memiliki fungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Antioksidan sintetik diizinkan penggunaannya dalam makanan untuk menjaga mutu dan perubahan sifat kimia makanan akibat proses oksidasi yang terjadi terutama pada waktu penyimpanan. Contohnya Butylated Hidroxyanisole (BHA), Butylated Hydroxytoluene (BHT), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Tert-Butyl Hidroxy Quinon (TBHQ), propyl gallate (PG), Nordihydro guaretic acid (NDGA) dan lain-lain (Hamid, 2010).

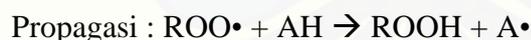
Pada saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena beberapa antioksidan terbukti bersifat karsinogenik dan beracun terhadap hewan percobaan (Zuhra *et al.*, 2008). Telah dilaporkan bahwa penggunaan antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT dapat menimbulkan akibat buruk terhadap kesehatan manusia yaitu gangguan fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan. Penggunaan antioksidan sintetik dapat menimbulkan keracunan pada dosis tertentu, menurut rekomendasi *Food and Drug Administration* (FDA) dosis antioksidan sintetik yang diizinkan dalam pangan adalah 0,01%- 0,1% (Panagan, 2011).

2.4.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas ($R\cdot$, $ROO\cdot$) dan mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil (RH) (Lee *et al.*, 2004). Sementara turunan radikal antioksidan ($A\cdot$) memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula $R\cdot$ (Wong, 1989). Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal lipid mengikuti persamaan reaksi sebagai berikut:



Radikal lipida



2.5 Tinjauan Tentang Malondialdehid

Menurut Gomes *et al.* (2005), malondialdehid (MDA) merupakan suatu radikal bebas hasil dari metabolit lipid peroksida yang secara luas digunakan sebagai biomarker biologis untuk menilai stress oksidatif. Lipid peroksida terbentuk karena kelebihan produk *reactive oxygen species* (ROS) yang menyerang komponen sel (membran lipid dan protein) dengan melibatkan residu asam lemak ganda dari fosfolipid yang sangat sensitif terhadap oksigen. Setelah terbentuk, radikal peroksil ($ROO\cdot$) disusun kembali melalui reaksi siklikasi pada

endoperoksida (perkursor malondialdehid) dengan produk akhir dari proses peroksidasi menjadi MDA (Valko *et al.*, 2007).

MDA mengindikasikan adanya radikal bebas dalam tubuh, semakin tinggi kadar MDA dalam tubuh maka semakin tinggi pula reaksi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh dalam tubuh (Gitawati, 1995). Peningkatan kadar MDA pada darah disebabkan oleh peningkatan kadar peroksidasi lipid akibat radikal bebas. Oleh karena itu, peningkatan kadar MDA menunjukkan banyaknya radikal bebas (komar, 2010). Di sisi lain, tingginya kadar MDA plasma juga membuktikan kerentanan membran sel terhadap reaksi oksidasi, akibatnya sel terutama membran sel akan mengalami kerusakan dan berakibat timbulnya penyakit-penyakit degeneratif seperti kanker, proses penuaan dan lain-lain (Winarsi, 2007). MDA dapat bereaksi dengan komponen nukleofilik atau elektrofilik dan dapat berikatan dengan berbagai molekul biologis seperti protein, asam nukleat dan aminofosfolipid secara kovalen. MDA dapat menghasilkan polimer dalam berbagai berat molekul dan polaritas (Winarsi, 2007).

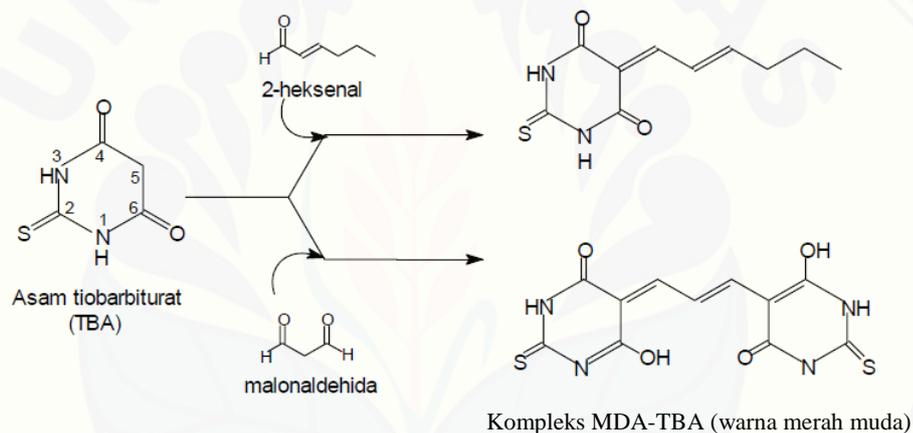
Peningkatan kadar MDA dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan seperti vitamin A,C, E dan albumin ataupun flavonoid dan gingerol (Winarsi, 2007), karena antioksidan dapat bereaksi dengan radikal bebas dengan mendonorkan atom H sehingga reaksi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh dapat berkurang bahkan tidak terjadi yang kemudian mencegah kadar MDA meningkat (Hardi *et al.*, 2013). Status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA (Winarsi, 2007).

2.6 Tinjauan Tentang Metode TBARS

MDA dapat digunakan untuk membuktikan terjadinya deteriorasi oksidatif pada suatu substrat dan salah satu tes yang paling sering digunakan untuk mengetahui kadar MDA adalah *Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS). TBARS adalah pemeriksaan MDA yang relatif mudah dikerjakan dan cepat. *Thiobarbituric acid* (TBA) ditambahkan ke dalam sampel sehingga

terbentuk formasi kompleks MDA-TBA menghasilkan warna merah yang dapat diperiksa dengan spektrofotometri ($\lambda_{\text{max}} = 532\text{--}535\text{ nm}$) (Lykkesfeldt, 2001).

Malonaldehida, 4-hidroksinonenal, dan heptanal, merupakan aldehida-aldehida hasil dekomposisi senyawa hidroperoksida, yang bereaksi dengan TBA dan menghasilkan warna merah. Warna merah tersebut menyerap cahaya ultraviolet pada panjang gelombang (λ) 532 nm. Kemampuan TBA bereaksi dengan aldehida atau keton, karena adanya atom karbon nomor 5 (C-5) TBA yang reaktif. Rasio reaksi antara TBA dengan aldehida berbeda - beda, misalnya rasio reaksi TBA dengan 2-heksenal adalah 1:1 dan rasio reaksi TBA dengan malonaldehida adalah 2:1 (Gambar 1) (Chozas *et al.*, 1998).



Gambar 2.3. Reaksi TBA dengan 2-heksanol dan malonaldehid (Chozas *et al.*, 1998)

Spektrofotometri UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Vis (Khopkar, 1990). Pemeriksaan harus dilakukan pada pH rendah dan kenaikan temperatur yang halus. Pemeriksaan ini dapat dilakukan secara *in vivo* dan juga dengan model sistem lipid seperti mikrosom atau liposom. Pemeriksaan lain yang lebih akurat untuk mengukur MDA dengan menggunakan TBA *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) akan tetapi metode ini lebih mahal dan prosedurnya lebih rumit (Lykkesfeldt, 2001).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

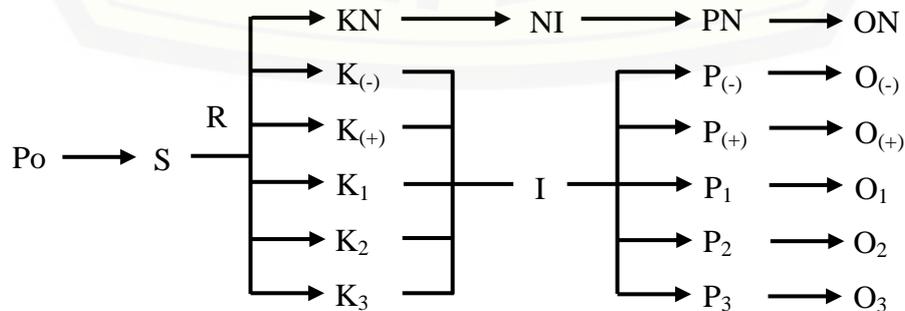
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik (*true experimental laboratories*) yang menggunakan hewan coba mencit sebagai subjek penelitian.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober 2016 sampai Desember 2016.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *the post test only-control group design* yang menggunakan mencit sebagai subjek penelitian. Mencit dibagi menjadi 6 kelompok yaitu 1 kelompok normal, 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Perlakuan berupa pemberian sari buah kurma pada mencit jantan yang dipapar asap rokok. Parameter pengukuran variabel berupa pemeriksaan kadar MDA pada plasma darah. Skema rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian

Keterangan :

- Po : Populasi normal mencit
S : Sampel normal mencit
R : Randomisasi mencit
K : Kelompok
NI : Pemaparan udara lingkungan
I : Induksi dengan pemaparan asap rokok sebanyak satu batang setiap hari selama 14 hari
P : Perlakuan
N : Normal, mencit diberikan aquadest *per oral*
(-) : Kontrol negatif, mencit diberikan aquadest *per oral*
(+) : Kontrol positif, mencit diberikan larutan vitamin C dosis 60 mg/kgBB/hari *per oral*
1 : Perlakuan dosis I, mencit diberikan larutan sari kurma dosis 5 ml/kg BB/hari *per oral*
2 : Perlakuan dosis II, mencit diberikan larutan sari kurma dosis 10 ml/kg BB/hari *per oral*
3 : Perlakuan dosis III, mencit diberikan larutan sari kurma dosis 20 ml/kg BB/hari *per oral*
O : Pengamatan kadar malondialdehid (MDA) pada plasma darah mencit masing-masing kelompok

3.4 Jumlah Sampel

Pengelompokan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling* menjadi enam kelompok. Estimasi jumlah pengulangan atau besar sampel dalam penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus Federer yaitu (Furqon *et al.*, 2015) :

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

Keterangan :

n : jumlah sampel

p : jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

jika, $p = 6$

maka, $\{(6-1)(n-1)\} \geq 15$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, total sampel yang digunakan minimal 24 ekor mencit atau 4 ekor untuk masing-masing kelompok.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan adalah kandang mencit, spektrofotometer UV-Vis (Labomed, Inc UVD-2950), timbangan hewan (Ohaus), timbangan analitik (Ohaus), sentrifuge (Hettich, EBA 20), *smoking pump*, *smoking chamber*, *waterbath* (GFL type 1004), vortex (Health), mikropipet (Socorex Swiss), alat-alat gelas, korek api, spuit, sonde, vial, *microtube*, *microhaematocrit*, alat bedah (pisau bedah, gunting papan bedah, pinset)

3.5.2 Bahan

Bahan uji berupa produk sari buah kurma, rokok kretek non filter dengan kadar nikotin 2,3 mg, vitamin C farmasetis, aquadest, vaculab K3 EDTA (OneMed), asam asetat glasial, 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) (Sigma-Aldrich, No. T9889), asam Trikloroasetat (TCA) (Sigma-Aldrich, No. 33731), asam Tiobarbiturat (TBA) (Sigma-Aldrich, No. T5500).

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis sari buah kurma yaitu 5 ml/kgBB, 10 ml/kgBB, dan 20 ml/kgBB yang diberikan *per oral* pada kelompok perlakuan.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar MDA pada plasma darah dalam satuan μM .

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jenis hewan coba yakni mencit jantan galur *Balb/c*, sehat, umur 8-10 minggu dengan berat badan 20-30 gram, makanan hewan coba, paparan asap rokok, prosedur pengujian kadar MDA.

3.7 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Sari buah kurma yang digunakan adalah produk sari buah kurma X yang terdaftar di Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dengan nomor registrasi MD 16570900XXXX. Sari buah kurma dikatakan memiliki pengaruh jika kadar MDA plasma darah kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kontrol negatif.
- b. Paparan asap rokok dilakukan dengan membakar rokok yang telah disambungkan ke *smoking pump* sehingga asap rokok masuk ke dalam *smoking chamber* dan dihirup oleh mencit yang ada di dalamnya.
- c. MDA adalah salah satu biomarker kerusakan oksidatif yang akan diukur kadarnya menggunakan metode TBARS.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Penyiapan Hewan Coba

Mencit terlebih dahulu diadaptasikan selama tujuh hari di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dengan diberikan pakan dan minum *ad libitum*. Selanjutnya, semua mencit secara acak dibagi menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok berisi 4 ekor mencit dengan perlakuan berbeda pada tiap kelompoknya.

3.8.2 Pengenceran Sari Buah Kurma

Sari buah kurma diencerkan terlebih dahulu menggunakan aquadest agar mudah dalam pemberian pada mencit. Perbandingan sari buah kurma dan aquadest untuk pengenceran adalah 2:1. Perhitungan pengenceran dapat dilihat pada lampiran B.

3.8.3 Perlakuan Hewan Coba

Setelah beradaptasi, masing-masing kelompok dimasukkan ke dalam *smoking pump*. Untuk *smoking pump* disediakan kandang dengan ukuran 40 cm x 20 cm x 25 cm. Kandang tersebut terbuat dari kardus yang dilubangi pada bagian samping bawah untuk memasukkan rokok dan satu lubang lagi di bagian atas sebagai ventilasi. Kemudian mencit dipapar asap rokok satu batang rokok setiap hari pada setiap kelompok selama 30 menit kecuali pada kelompok normal. Setelah pemaparan, kelompok kontrol negatif diberikan aquadest, kelompok kontrol positif diberikan vitamin C dan kelompok perlakuan diberikan sari buah kurma secara per oral sesuai dosisnya. Untuk kelompok normal, dipapar dengan udara luar kemudian diberikan aquadest secara per oral sesuai dosisnya. Pemaparan dan perlakuan dilakukan selama 14 hari.

3.8.4 Pengambilan Sampel Darah

Pada hari ke 14, mencit dipuasakan selama 16 jam sebelum dilakukan pengambilan darah. Darah mencit diambil secara intraorbital dengan memakai *microhaematocrit* tepat mengenai medial *canthus sinus orbitalis*. Darah ditampung menggunakan vaculab K3 EDTA. Untuk mendapatkan plasma selanjutnya darah disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Plasma yang sudah terpisah diambil menggunakan mikropipet. Plasma ditampung menggunakan *microtube* dan siap untuk pemeriksaan kadar MDA.

3.8.5 Prosedur Pengukuran MDA

a. Persiapan reagen

0,67 gram TBA ditimbang kemudian dilarutkan dalam asam asetat glasial 10% sampai 100 ml. Pada wadah yang berbeda ditimbang juga 7,5 gram TCA larutkan juga dengan aquadest 100 ml. Pembuatan reagen TBA dan TCA dilakukan dalam labu takar 100 ml.

b. Metode validasi

Metode analisis divalidasi sesuai dengan petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya (Harmita, 2004). Linearitas ditentukan dari 8 konsentrasi yang berbeda yaitu 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 10 dan 16 μM . Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) ditentukan dari persamaan regresi linear kurva standar hasil penentuan linieritas dari 5 konsentrasi dibawah konsentrasi uji linieritas. Presisi repeatabilitas dilakukan dengan mengukur absorbansi standar sebanyak 3 replikasi pada 6 konsentrasi dan pengujian presisi intermediet dilakukan dengan prosedur yang sama namun diukur pada hari yang berbeda. Akurasi diukur dengan menggunakan metode adisi dengan menganalisis sampel lalu standar TEP ditambahkan dan dianalisis kembali dengan spektrofotometer uv-vis. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar sebenarnya.

c. Penentuan kurva baku

Pembuatan larutan stok 1 dengan cara memipet 1,1,3,3- tetraetoksipropane (TEP) sebanyak 5 μL dilarutkan dalam HCl 0,01 N sampai 10 ml kemudian

dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu 50⁰C selama 1 jam. Selanjutnya dari larutan stok I diambil 1 ml kemudian diencerkan dengan larutan TCA 7,5 % sampai 10 ml sehingga didapatkan stok II. Pembuatan kurva baku dilakukan dengan mengambil stok II kemudian dibuat 8 seri konsentrasi berbeda, yaitu 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 10 dan 16 μ M. Selanjutnya 100 μ l dari masing–masing konsentrasi di tambahkan 1 ml larutan TCA 7,5% dan 2 ml larutan TBA 0,67% kemudian dipanaskan dalam air mendidih pada suhu 95⁰C selama 15 menit dan didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit, selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Jung *et al.*, 2016).

d. Prosedur penetapan MDA

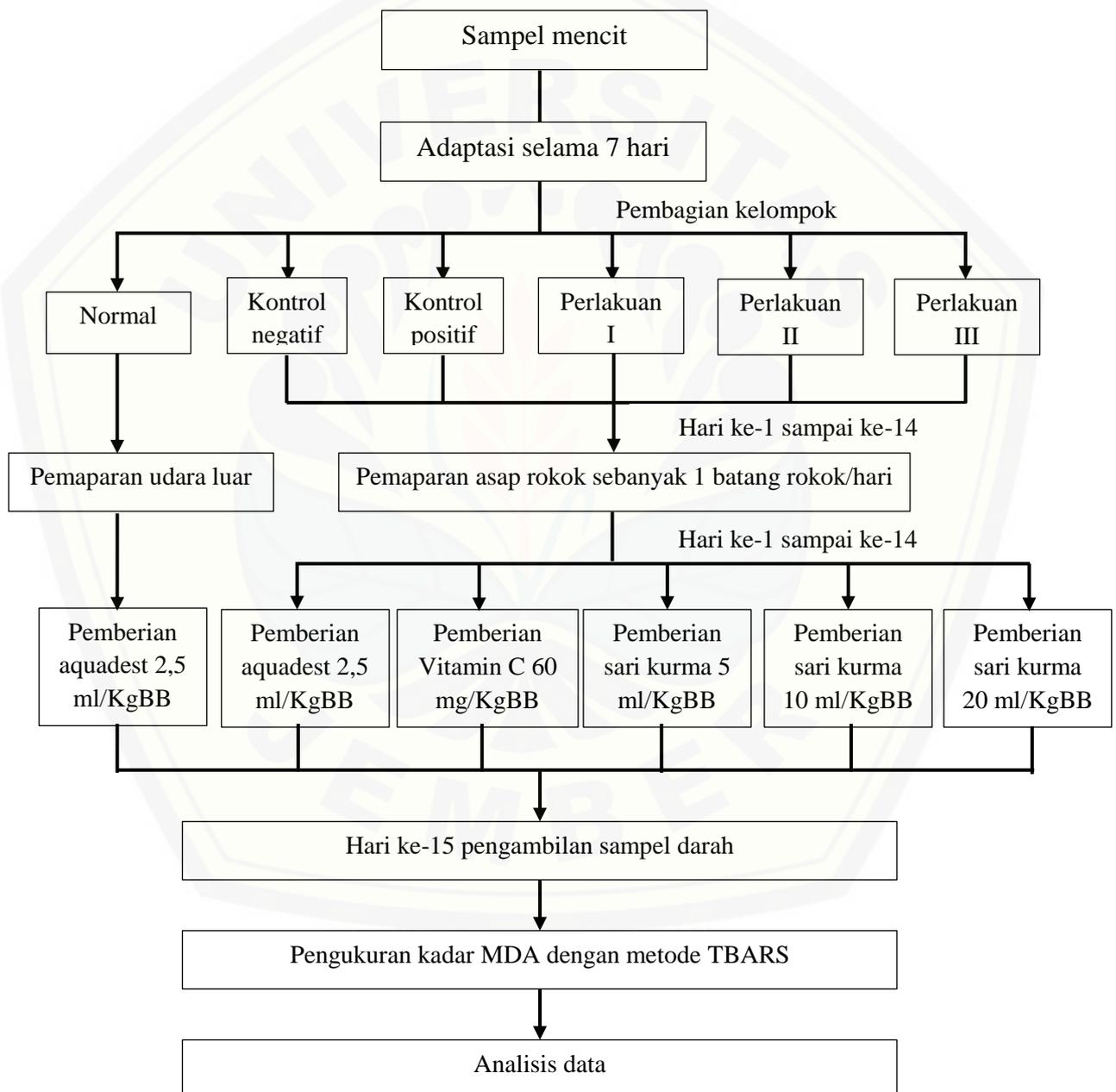
100 μ l plasma darah hewan uji dimasukkan kedalam tabung reaksi, di tambahkan 1 ml TCA 7,5% dan 2 ml TBA 0,67%, kemudian dipanaskan dalam air mendidih pada suhu 95⁰C selama 15 menit, selanjutnya campuran tersebut didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit. Campuran plasma darah hewan uji, TBA, dan TCA yang sudah dingin disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan yang didapat diambil dan dibaca menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk memperoleh nilai absorbansi. Kadar MDA dihitung menggunakan persamaan regresi linear pada kurva baku (Jung *et al.*, 2016).

3.9 Analisis Data

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program komputer *Statistical Program Service Solution* (SPSS). Analisis data menggunakan uji parametrik, untuk mengetahui data berdistribusi normal dilakukan analisis normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*, sedangkan untuk mengetahui varian data dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan uji *One Way Anova* untuk melihat signifikansi tiap kelompok. Apabila ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan maka di lanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BLT) atau LSD. Jika data tidak

dapat diuji menggunakan *One Way Anova*, maka data dianalisis menggunakan uji non parametrik yaitu dengan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

3.10 Alur Penelitian

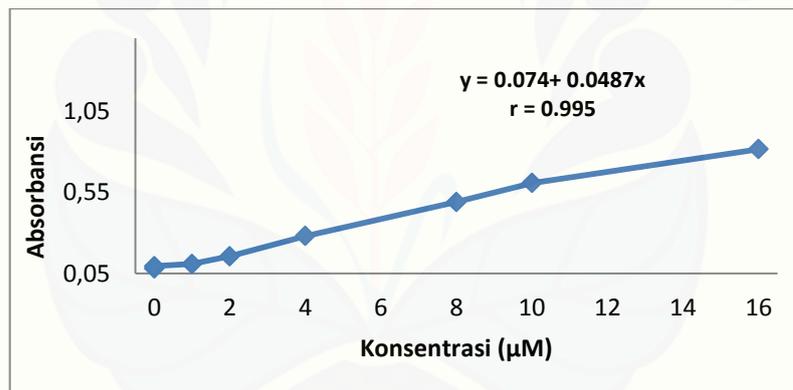


Gambar 3.2. Kerangka kerja percobaan

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil dan Analisis Data

Pengaruh pemberian sari buah kurma terhadap kadar MDA dalam plasma darah mencit *Balb/c* yang dipapar asap rokok ditentukan dengan mengukur kadar MDA menggunakan test *Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS) yang berdasarkan pemeriksaan reaksi spektrofotometri UV-Vis. Sebelumnya dilakukan validasi metode analisis untuk membuktikan bahwa metode tersebut telah memenuhi persyaratan dan hasil analisisnya mendekati kebenaran. Parameter yang diamati adalah linieritas, LOD dan LOQ, presisi serta akurasi yang dapat dirujuk pada lampiran D. Hasil uji linieritas dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Kurva Linieritas

Gambar 4.1 menunjukkan hasil yang linier atau proporsional antara konsentrasi dan absorbansi yang ditunjukkan dengan $r > 0,995$, $V_x 0 1,075\%$ dan $X_p 0,243$ sehingga memenuhi kriteria penerimaan artinya kinerja metode yang digunakan untuk rentang konsentrasi yang diukur sangat baik. Hasil uji LOD dan LOQ menunjukkan limit deteksi sebesar $0,045\mu\text{M}$ dan limit kuantifikasi sebesar $0,149\mu\text{M}$. Hasil uji presisi repeatabilitas dan presisi intermediet memberikan nilai RSD $1,538\%$ dan $2,387\%$. Nilai RSD yang didapat telah memenuhi syarat penerimaan uji presisi yaitu sebesar $\leq 2,7\%$ (Harmita, 2004) dan memberikan hasil yang presis atau seksama. Pada uji akurasi diperoleh rata-rata % *recovery*

dari sejumlah sampel sebesar 98.953% yang berada pada rentang penerimaan yaitu 95-105% (Harmita, 2004). Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode ini memiliki ketepatan yang baik dalam menunjukkan tingkat kesesuaian pengukuran dengan nilai yang sebenarnya.

Hasil pemeriksaan kadar MDA dalam plasma darah mencit yang dipapar asap rokok satu batang rokok setiap hari pada setiap kelompok kecuali kelompok normal, dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Kadar MDA dalam plasma darah mencit

Perlakuan	Kadar MDA (μM) \pm SD
Normal	0,619 \pm 0,099 ^a
Kontrol (-) Aquadest	3,356 \pm 0,5005 ^b
Kontrol (+) Vitamin C	1,221 \pm 0,083 ^c
Sari kurma dosis 5 ml/kgBB	2,981 \pm 0,054 ^b
Sari kurma dosis 10 ml/kgBB	2,699 \pm 0,349 ^d
Sari kurma dosis 20 ml/kgBB	1,430 \pm 0,455 ^e

Data ditunjukkan dalam rata-rata \pm SD dengan n = 4. Huruf *superscript* yang sama menunjukkan antar perlakuan tidak terdapat perbedaan yang signifikan berdasarkan uji *Mann-Whitney* (p > 0,05)

Kadar MDA dalam plasma darah mencit kontrol negatif yang dipapar asap rokok lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar MDA dalam plasma darah mencit normal yang hanya dipapar udara tanpa asap rokok. Hal ini menunjukkan bahwa asap rokok dapat meningkatkan kadar MDA dalam plasma darah mencit. Kadar MDA dalam plasma darah mencit yang dipapar asap rokok dengan pemberian vitamin C lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol negatif yang hanya dipapar asap rokok, begitu juga dengan kelompok yang dipapar asap rokok dan diberi sari buah kurma. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dan sari buah kurma dapat menurunkan kadar MDA dalam plasma darah mencit yang dipapar asap rokok.

Data kadar MDA dalam plasma darah mencit tersebut kemudian dianalisis secara statistik. Pada uji normalitas dapat dilihat pada setiap kelompok memiliki nilai p > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data sampel terdistribusi normal,

dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan syarat memiliki nilai $p > 0,05$. Hasil menunjukkan nilai $p = 0,001$, yang berarti bahwa terdapat perbedaan varian antar kelompok sehingga uji homogenitas tidak terpenuhi dan tidak dapat diuji secara parametrik. Oleh karena itu, data dianalisis menggunakan uji non parametrik yaitu dengan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan kadar MDA dalam plasma darah pada tiap kelompok perlakuan. Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh $p < 0,001$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA dalam plasma darah secara signifikan, kemudian dilanjutkan analisis untuk mengetahui perbedaan kadar MDA antar kelompok perlakuan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kelompok normal yang tidak diberi paparan asap rokok berbeda signifikan dengan semua kelompok yang diberi paparan asap rokok. Hal ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok dapat meningkatkan kadar MDA dalam plasma darah secara signifikan. Kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, sari kurma dosis 10 ml/kgBB dan sari kurma dosis 20 ml/kgBB ($p = 0,034$), namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok sari kurma dosis 5 ml/kgBB ($p = 0,191$). Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dan sari buah kurma dosis 10 ml/kgBB dan 20 ml/kgBB dapat menurunkan kadar MDA dalam plasma darah secara signifikan, sedangkan sari kurma dosis 5 ml/kgBB kurang efektif dalam menurunkan kadar MDA plasma darah dibandingkan kelompok perlakuan lain.

Kadar MDA plasma darah kontrol positif berbeda signifikan dengan sari kurma dosis 5 ml/kgBB, 10 ml/kgBB dan 20 ml/kgBB ($p = 0,021$) dan masing-masing kelompok sari kurma memberikan perbedaan yang signifikan antar kelompoknya ($p < 0,021$). Semakin meningkat dosis sari kurma, maka semakin besar efek penurunan kadar MDA dalam plasma darah.

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan sari buah kurma dalam menurunkan kadar MDA plasma darah mencit yang dipapar asap rokok. Metode pengukuran MDA yang digunakan adalah metode *Thiobarbituric Acid*

Reactive Substance (TBARS). Prinsip dari metode ini yakni 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 (Lykkesfeldt, 2001). Sebelumnya dilakukan validasi metode analisis untuk membuktikan bahwa metode tersebut telah memenuhi persyaratan dan hasil analisisnya mendekati kebenaran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa masing-masing parameter yang diamati telah memenuhi persyaratan artinya metode yang digunakan memberikan hasil yang valid.

Plasma darah yang diperoleh kemudian ditambahkan TCA 7,5% dan TBA 0,67%. Penambahan TCA berfungsi untuk mengendapkan protein yang terdapat di dalam plasma, sedangkan penambahan TBA berfungsi untuk mengikat MDA. Penambahan TBA harus dalam keadaan asam yaitu dengan ditambahkan asam asetat glasial 10% agar dapat bereaksi sempurna dengan MDA. Inkubasi selama 15 menit pada suhu 95⁰C bertujuan untuk mempercepat reaksi. Supernatan yang diperoleh kemudian diukur kadarnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Pada penelitian ini, pemaparan asap rokok menyebabkan peningkatan kadar MDA dalam plasma darah. Pada tabel 4.1 kadar MDA plasma darah kelompok kontrol negatif yang dipapar asap rokok meningkat jika dibandingkan dengan kelompok normal yang tidak dipapar asap rokok. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Adyttia *et al.* (2014) bahwa paparan asap rokok secara akut dapat meningkatkan kadar MDA dalam plasma darah. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Hardi *et al.* (2013) dan Nasution *et al.* (2016) juga menyebutkan bahwa asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas serta dapat meningkatkan kadar MDA dalam tubuh.

Pada 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 dalam plasma darah. Jumlah radikal bebas yang ada di dalam tubuh berpengaruh terhadap kerja antioksidan endogen. Kadar MDA dalam plasma darah kelompok kontrol negatif yang tinggi

disebabkan oleh paparan radikal bebas yang terus-menerus sehingga dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh dan memicu ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen yang akan menyebabkan stress oksidatif (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001). Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang dapat menghasilkan produk akhir yang bersifat toksik seperti MDA (Nasution *et al.*, 2016). Sehingga, tingginya kadar MDA yang disebabkan oleh tingginya peroksidasi lipid secara tidak langsung menunjukkan tingginya kadar radikal bebas.

Untuk membandingkan aktivitas antioksidan bahan uji, maka penelitian ini menggunakan kontrol positif yaitu vitamin C. Vitamin C dipilih karena berdasarkan penelitian Panda (2000), vitamin C dapat mencegah kerusakan oksidatif utama seperti peroksidasi lipid yang disebabkan oleh paparan asap rokok, dan juga vitamin C secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA tikus yang telah diinduksi dengan dimetoat (Saafi *et al.*, 2011). Selain itu, vitamin C mudah larut dalam air dan harganya lebih terjangkau. Dari hasil penelitian, kadar MDA plasma darah yang diberikan vitamin C menunjukkan adanya penurunan kadar MDA dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini disebabkan vitamin C mampu menangkap oksigen dengan memindahkan atom hidrogen pada oksigen sehingga oksigen tidak lagi tersedia untuk proses selanjutnya dalam pembentukan radikal bebas (Muliarta *et al.*, 2009).

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah sari buah kurma dalam berbagai dosis. Hasil pemeriksaan kadar MDA dalam plasma darah kelompok yang diberikan sari buah kurma menunjukkan bahwa pemberian sari buah kurma pada semua dosis dapat menurunkan kadar MDA dalam plasma darah. Sari kurma memberikan efek antioksidan dengan menurunkan kadar MDA plasma darah mencit. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Vayalil (2002) bahwa ekstrak air buah kurma dapat menurunkan kadar radikal bebas superoksida dan hidroksil hingga 50% dari konsentrasi awal. Saafi *et al.* (2011) juga menyebutkan bahwa kurma jenis Deglet Nour yang diekstraksi dengan aquadest terbukti memiliki efek yang sama dengan vitamin C yaitu secara signifikan dapat menurunkan MDA tikus yang telah diinduksi dengan dimetoat.

Aktivitas antioksidan dari sari buah kurma ini diduga karena buah kurma mengandung beberapa senyawa antioksidan, di antaranya dari golongan fenolik, flavonoid dan vitamin C (Primurdia & Kusnadi, 2014). Senyawa fenolik mampu mendonorkan gugus hidrogen untuk bereaksi dengan spesies oksigen dan nitrogen reaktif pada reaksi terminasi, yang merusak siklus yang menghasilkan radikal bebas baru. Kapasitas antioksidan senyawa fenolik juga dikarenakan kemampuannya dalam mengkelat ion logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas. Fenolik juga mampu menghambat beberapa enzim yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas seperti sitokrom P450 isoform (Pereira *et al.*, 2009).

Flavonoid adalah antioksidan eksogen yang telah terbukti bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif (Wayan & Made, 2012). Senyawa flavonoid berperan dalam penghambatan peroksidasi lipid karena mampu menangkap radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogennya dari gugus -OH kepada radikal bebas, sehingga reaksi antara radikal bebas dengan lemak tak jenuh menjadi berkurang bahkan tidak terjadi lagi (Hardi *et al.*, 2013). Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada posisi gugus dan jumlah dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas anti radikalnya semakin tinggi (Amic *et al.*, 2002). Mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah menangkap radikal bebas secara langsung, mencegah regenerasi radikal bebas dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim (Hardiningtyas *et al.*, 2014).

Sari buah kurma juga mengandung vitamin C. Berdasarkan *USDA National Nutrient Database* (2016), dalam 100 gram buah kurma jenis Deglet Nour mengandung air 20,53g, energy 282 kkal, protein 2,45 g, total lemak 0.39 g, karbohidrat 75 g, serat 8g, vitamin C 0,4 mg, niacin 1,274 mg, vitamin B6 0,165 mg, Vitamin E 0,05 mg, mineral kalsium 39 mg, iron 1,02 mg, magnesium 43 mg, phosphorus 62 mg, sodium 2 mg dan zinc 0,29 mg. Kombinasi vitamin C dan fenolik dapat meregulasi level glutathion intraseluler (Pereira *et al.*, 2009).

Berdasarkan data rata-rata kadar MDA dalam plasma darah pada tabel 4.1 diketahui bahwa pada dosis 5 ml/kgBB memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan dengan dosis 10 ml/kgBB dan 20 ml/kgBB. Penurunan

kadar MDA terbesar terjadi pada kelompok sari kurma dosis 20 ml/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa semakin meningkat dosis sari kurma hingga batas 20 ml/kgBB maka semakin banyak jumlah senyawa antioksidan yang terkandung dalam sari buah sehingga akan semakin efektif dalam menurunkan kadar MDA dalam plasma darah.

Pada penelitian ini, kemampuan sari buah kurma dalam menurunkan kadar MDA lebih rendah jika dibandingkan dengan vitamin C. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Saafi *et al.* (2011) dimana dalam penelitian tersebut kemampuan ekstrak air buah kurma jenis Deglet Nour dalam menurunkan kadar MDA hati lebih tinggi jika dibandingkan dengan vitamin C. Perbedaan dalam penelitian ini mungkin disebabkan oleh dosis sari buah kurma dalam penelitian ini yang terlalu rendah, sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan belum bisa mengalahkan aktivitas vitamin C tunggal. Jenis sediaan yang berbeda juga dapat mempengaruhi kandungan antioksidan didalamnya. Dalam penelitian ini, sediaan yang digunakan dalam bentuk sari buah kurma, sedangkan pada penelitian yang dilakukan Saafi *et al.* (2011) dalam bentuk ekstrak buah kurma. Kandungan antioksidan dalam ekstrak buah kurma diduga lebih tinggi jika dibandingkan dengan sari buah kurma. Hal ini disebabkan pada pembuatan ekstrak buah kurma lebih kompleks jika dibandingkan dengan pembuatan sari buah kurma yang lebih sederhana. Selain itu, perbedaan jenis buah kurma dan tingkat kematangan buah kurma juga dapat mempengaruhi kandungan antioksidan. Proses pengeringan kurma akan menaikkan kadar fenolik dan asam fenolik antara 20-100%, sementara di waktu bersamaan menurunkan kadar antosianin (warna merah pekat) dan komponen antioksidan yang lain hingga 50% (Al-Farsi *et al.*, 2005). Sari kurma yang digunakan dalam penelitian ini berupa produk yang ada di pasaran, sehingga tidak diketahui jenis dan tingkat kematangan buah kurmanya.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian sari buah kurma dapat menurunkan kadar MDA plasma darah mencit yang dipapar asap rokok.
2. Pemberian sari buah kurma dosis 20 ml/kgBB paling efektif menurunkan kadar MDA plasma darah mencit yang dipapar asap rokok.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa aktif yang berperan dalam menurunkan kadar MDA plasma darah mencit yang dipapar asap rokok.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas sari buah kurma untuk mengevaluasi batas keamanannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adyitia, A., Untari, E. K., & Wahdaningsih, S. 2014. Efek Ekstrak Etanol Daun *Premna cordifolia* terhadap Malondialdehida Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Pharm Sci Res*, Vol.1 (2): 104-115
- Al-Farsi, Alasalvar, Morris, Baron, Shahidi. 2005. Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53 (19): 7592-7599
- Al-Shahib, W. & Marshall, R. J. 2003. The Fruit of the Date Palm : Its Possible Use as the Best Food for the Future. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, Vol. 54 (4): 247-259
- Amic, Beslo, Trinajstic, Davidovic. 2002. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatia Chemica Acta*, Vol. 6 (1): 55-61
- Ataga, C. D., Mohammed, A. H., & Yusuf, A. O. 2012. Status of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Genetic Esources in Nigeria. *International Journal of Life Science & Pharma research*, Vol. 2 (2): 46-51
- Atmani, Chaher, Berboucha, Debbache, Boudaoud. 2009. Flavonoids in Human Health: From Structure to Biological Activity. *Current Nutrition and Food Science*, (5): 225-237
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Balitbangkes Kemenkes RI
- Burlakova, Zhizhina, Garevich, Fatkulina. 2010. Biomarkers of Oxidative Stress and Smoking in Cancer Patients. *Journal of Cancer Research and Therapeuthics*, Vol.6 (1): 47-53
- Chozas, M. G., Romero I.M. V., & Sans, R. G. 1998. 2-Thiobarbituric acid test for lipid oxidation in food: Synthesis and spectroscopic study of 2-thiobarbituric acid-malonaldehyde adduct. *Journal of American Oil Chemistry Society*, Vol. 75: 1711-1715
- Devlin, M. T. 2002. *Bioenergetics and Oxidative Metabolism in : Biochemistry with Clinical Correlations*. 5th ed. Canada: Wiley-liss.p.590-592
- Dewi, S., Budi, H., & Hendra, F. 2013. Penentuan Kadar Nikotin dalam Asap Rokok. *Makara Kesehatan*, Vol. 7 (2): 38-41

- Dungir, S.G., Katja, D. G , & Kamu, V.S. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*). *Jurnal MIPA Unsrat Online*, Vol. 1 (1): 11-15
- Fidrianny, I., Supradja, I., & Soemardji, A. 2004. Analisis Nikotin dalam Asap dan Filter Rokok. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. 29 (3): 38-41
- Fowles, J. & Bates, M. 2000. The Chemical Constituents in Cigarettes and Cigarettes Smoke : Prirites for Harm Reduction Epidemiology and Toxicology, Group ESR. *Kenepuru Science Center*, 1-67
- Furqon, A., Nurmukhlis, H. & Kasiman, S. 2015. Stabilitas Konsentrasi Glukosa Darah Simpan Jangka Pendek dalam Tabung Berteknologi Pemisal Jel. *Pharmaciana*, Vol. 5 (2): 108-114
- Gitawati, R. 1995. Radikal Bebas, Sifat dan Perannya dalam Menimbulkan Kerusakan/Kematian Sel. *Cermin Dunia Kedokteran*, 102: 33-36
- Ghosh, Das, Manna, Sil. 2010. Arjunolic acid, a triterpenoid saponin, prevents acetaminophen (APAP)-induced liver and hepatocyte injury via the inhibition of APAP bioactivation and JNK-mediated mitochondrial protection. *Free Radical Biology Medicine*, Vol. 48 (4): 535-553
- Gomes, Barbosa, Radaeli, Cavanal, Aires, Zaladek. 2005. Effect of D- α -Tocopherol on Tubular Nephron Acidification by Rats with Induced Diabetes Mellitus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Vol.38: 1043-1051
- Guyton & Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 9. Jakarta: EGC
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York : Oxford University Press
- Hamid, 2010. Antioxidants: Its Medicinal and Pharmacological Applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol. 4 (8): 142-151
- Hardi, R. M., Marhendra, A.P.W., & Aulanni'am. 2013. Pengaruh Terapi Rebusan Akar Gantung Pohon Beringin (*Ficus benjamina L.*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Profil Pita Protein Serum Tikus (*Rattus norvegicus*) Hasil Paparan Asap Rokok. *Artikel Ilmiah*. Malang: Universitas Brawijaya
- Hardinsyah, Briawan, Sulaeman, Rimbawan, Aries, Dewi. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Indeks Glikemik Sari Kurma serta Efikasinya terhadap

- Stamina. *Semnas Persatuan Agroteknologi/Agroekoteknologi Indonesia (PAGI)*, : 345-357
- Hardiningtyas, S. D., Purwaningsih, S., & Handharyani, E. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*, Vol.17 (1): 80-91
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 1 (3): 117-135
- Husen, I.R., & Sastramihardja, H. S. 2012. Efek Hepatoprotektif Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) pada Tikus Model Hepatitis. *Majalah Kedokteran Bandung*, Vol. 44 (2) : 1-7
- Inggrid, M. & Santoso, H. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Skripsi*. Universitas Katolik Parahyangan
- Integrated Taxonomic Information System. 2010. ITIS Report. [Serial Online]. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42458 diakses pada 16 april 2016
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* Thunb.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. Vol.16 (3):157 – 164
- Jung, S., Nam, K. C., & Jo, C. 2016. Detection of malondialdehyde in processed meat products without interference from the ingredients. *Food Chemistry*, vol. 209, 90-94
- 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*, Vol. 292 (1), 18-36
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Komar, S. 2010. Efek Ekstrak Pomegranat Terhadap Kadar Malondiladehida (MDA) dan Gambaran Mikroskopik Hati Tikus Strain Sprague Dawley yang Dipaparkan Asap Rokok. Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah
- Krumova, K., & Cosa, G. 2016. Chapter 1 : Overview of Reactive Oxygen Species. *Singlet Oxygen: Applications in Biosciences and Nanosciences*, Vol.1 (1):1-21

- Kumar, V., Abbas, A.K., & Fausto, N. 2005. *Pathologic Basis Of Disease. ed 7*. Philadelphia : Elsevier Saunders.
- Lee, J., Koo, N., & Min, D.B. 2004. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutreaceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 3 : 21-33
- Leeuwenburgh, C. & Heinecke, J. W. 2001. Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise. *Current Medicinal Chemistry*, Vol. 8: 829-838
- Lykkesfeldt, J. 2001. Determination of Malondialdehyde as Dithiobarbituric Ction Comparison with Ultraviolet Visible Spectrophotometry. *Clinical Chemistry*, Vol. 47 (9): 25-27
- Manach, Scalbert, Morand, Remesy, Jimenez. 2004. Polyphenols : Food Sources and Bioavailability. *American Journal Clinical Nutrition*, Vol.79: 727-747
- Marliana, E. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L] A. Cheval). *Mulawarman Scientifile*, Vol.11 (1) :71-81
- Misra, Chattopadhyay, Banerjee, Chattopadhyay, Chatterjee. 2003. Black Tea Prevents Cigarette Smoke-induced Oxidative Damage of Protein in Guinea Pigs. *Nutrient Interactions and Toxicity*, 133: 2622 – 2628
- Mohammed, D. A. & Al-Okbi, S. Y. 2004. In Vivo of Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Different Extracts of Date Fruits in Adjuvant Arthritis. *Polish Journal of Food Nutrition Sciences*, Vol.13/54 (4): 397-402
- Muliartha, I.K.G., Sriwahyuni, E., & Yuliawati. 2009. Oral Comsumption of Combined Vitamin C and E Repair Liver Damage Due to Subchronic Exposure to Cigarette Kretek. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol.24 (10): 23-27
- Nasution, A. S., Wirjatmadi, B., & Adriani, M. 2016. Efek Preventif Pemberian Ekstrak Kulit Buah Naga Berdaging Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) terhadap Malondialdehid Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, vol. 29 (1): 21-24
- National Nutrient Database for standard reference. 2016. USDA Report. [serial online].
<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2199?fgcd=&manu=&lfacet=&format=&count=&max=50&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=dates&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>. Diakses pada 20 Januari 2017

- 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*, Vol. 2 (1): 47-50
- Orrenius, S. 1993. Mechanism of oksidative cell damage. In: Poli G, Albano E, Dianzani MU. *Free Radical From Basic Science to Medicine*, p. 47-64
- Panagan, A.T. 2011. Pengaruh Penambahan Tepung Wortel (*Daucus carota L.*) terhadap Bilangan Peroksida dan Asam Lemak Bebas pada Minyak Goreng Curah. *Jurnal Penelitian sains*, Vol. 14 (2): 18-21
- Panda, Chattopadhyay, Chattopadhyay, Chatterjee. 2000. Vitamin C Prevents Cigarette Smoke–Induced Oxidative Damage in Vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 29 (2): 115–124
- Pereira, Valentao, Pereira, Andrade. 2009. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*, Vol. 14 (1): 2202-2211
- Primurdia, E. G., & Kusnadi, J. 2014. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix dactilyfera L.*) dengan Isolat *L. Plantarum* dan *L. Casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 2 (3): 98-109
- Rahimah, S. B., Sastramihardja, H. S., & Sitorus, T. D. 2010. Efek Antioksidan Jamur Tiram Putih pada Kadar Malondialdehid dan Kepadatan Permukaan Sel Paru Tikus yang Terpapar Asap Rokok. *Majalah Kedokteran Bandung*. Vol.42 (4): 1-8
- Ryan, H., Trosclair, A., & Gfroerer, J. 2012. Adult Current Smoking: Differences in Definition and Prevalence Estimate-NHIS and NSDUH. *Journal of Environmental and Public Health*, Vol. 11: 1-12
- Saafi, Louedi, Elfeki, Zakhama, Najjar, Hammami. 2011. Protective Effect of Date Palm Fruit Extract (*Phoenix dactylifera L.*) on Dimethoate Induced-Oxidative Stress in Rat Liver. *Experimental and Toxicologic Pathology*, Vol.63: 433-441
- Satuhu, S. 2010. *Kurma Kasiat dan Olahannya*. Ed I. Jakarta: Penebar Swadaya
- Sholihah, Q. & Widodo, M. A. 2008. Pembentukan Radikal Bebas Akibat Gangguan Ritme Sirkadian dan Paparan Batu Bara. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, Vol.4 (2):89-100
- Soetiarto, F. 1995. Mengenal Lebih Jauh Rokok Kretek. *Media Litbangkes*, Vol. 5 (4): 31-33

- Sudaryanti E. 1999. *Aspek penanganan Radikal Bebas Melalui Antioksidan*. Medan : Universitas Sumatera Utara
- Sunarni, T., Pramono, S. & Asmah, R. 2007. Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Majalah Farmasi Indonesia*, Vol.18 (3): 111–116
- Suryohusodo, P. 2000. *Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas, dalam Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta : CV. Infomedika
- Topcu, Ertas, Kolak, Ozturk, Ulubelen. 2007. Antioxidant Activity Tests on Novel Triterpenoids from *Salvia Macrochlamys*. *Archive for Organic Chemistry*, (7): 195-208
- Valko, Leibfritz, Moncol, Cronin, Mazur, Telser. 2007. Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Vol.39: 44-48
- Vayalil, P.K. 2002. Antioxidant & Antimutagenic Properties of Aqueous Extract of Date Fruit (*Phoenix dactylifera* L. Arecaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 50(3): 610-617
- Vickers, T., Young, I.S., & Eneny, J. M. 2001. Lipoprotein Oxidation and Atherosclerosis. *Biochemical Society*, Vol. 29 (2): 358
- Vyawahare, Pujari, Khsirsagar, Ingawale, Patil, Kagathara. 2009. *Phoenix dactylifera*: An Update of its Indegenous Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *The Internet Journal of Pharmacology*, Vol.7 (1): 1-9
- Wayan, S. I., & Made, J. I 2012. Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Medicina*, Vol. 43 (2): 67-70
- Wijaya A., 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, Forum Diagnosticum. *Prodia Diagnostic Educational Services*, No. 1 : 1-12
- Winarsi, H. M. S. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Cetakan 5. Yogyakarta : Penerbit Kanisius
- Wong. D. 1989. *Mechanism and Theory in food Chemitry*. New York: Van Nostrad Reinhold.
- World Health Organization. 2008. *WHO Report on the Global Tobacco Epidemic 2008 The Power Package*. http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/mpower_report_full_2008/_eng_full.pdf diakses 15 April 2016

- Yanbaeva, Dentener, Creutzberg, Wesseling, Wouters. 2007. Systemic Effect of Smoking. *Chest*, Vol.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 Yasri*, Vol. 12 (1): 85-92
- Yuningtyaswari. 2002. Pengaruh Asap Berbagai Jenis Rokok terhadap Peroksidasi Lipid Plasma Tikus Putih (*Rattus novergicus*, L). *Tesis*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada
- Zen, A. T. H., Pertiwi, D., & Chodidjah. 2013. Pengaruh Pemberian Sari Kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap Kadar Hemoglobin. *Sains Medika*, Vol. 5 (1):17-19
- Zuhra, C.F., Tarigan, J. & Sihotang, H. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa Flavonoid dari daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, Vol.3 (1): 7–10

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. Perhitungan Dosis Bahan Uji yang Diberikan pada Hewan Coba

A.1. Kelompok kontrol positif

Dosis vitamin C pada marmut = 15 mg

Konversi dosis marmut ke dosis mencit = 0,08

Dosis vitamin C pada mencit (20 g) = $0,08 \times 15 \text{ mg} = 1.2 \text{ mg}/20 \text{ g BB}$
mencit = 60 mg/kg BB/hari

A.2. Kelompok perlakuan dosis I

Dosis yang digunakan pada mencit = $\frac{1}{2} \times \text{dosis II} = \frac{1}{2} \times 10 \text{ ml/kg BB/hari} = 5 \text{ ml/kg BB/hari}$.

A.3. Kelompok perlakuan dosis II

Dosis sari buah kurma sebagai peningkat hemoglobin pada tikus = 1,6 ml/200g BB.

Konversi dosis tikus ke mencit = 0,14

Dosis yang digunakan pada mencit (20 g) = $0,14 \times 1,6 \text{ ml} = 0,224 \text{ ml}/20 \text{ g BB}$
mencit $\approx 0,2 \text{ ml}/20 \text{ g} = 10 \text{ ml/kg BB/hari}$

A.4. Kelompok perlakuan dosis III

Dosis yang digunakan pada mencit = $2 \times \text{dosis II} = 2 \times 10 \text{ ml/kg BB/hari} = 20 \text{ ml/kg BB/hari}$.

LAMPIRAN B. Perhitungan pengenceran bahan uji**B.1. Kelompok kontrol positif**

Kelarutan vitamin C = 1 dalam 3 air

Untuk memudahkan pemipetan, 500 mg vitamin C dilarutkan dalam 100 ml air

Volume vitamin C yang diberikan : $60 \text{ mg/kg BB} \times 100 \text{ ml}/500 \text{ mg} = 12 \text{ ml/kg BB}$

B.2. Kelompok perlakuan dosis I

Dosis yang digunakan adalah 5 ml/kg BB/hari.

Pengenceran antara sari kurma dan aquadest adalah 2 : 1

Volume aquadest yang diberikan untuk 1 kg BB adalah $\frac{1}{2} \times 5 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$

Total volume yang diberikan adalah $5 \text{ ml} + 2,5 \text{ ml} = 7,5 \text{ ml/kg BB}$

A.5. Kelompok perlakuan dosis II

Dosis yang digunakan adalah 10 ml/kg BB/hari.

Pengenceran antara sari kurma dan aquadest adalah 2 : 1

Volume aquadest yang diberikan untuk 1 kg BB adalah $\frac{1}{2} \times 10 \text{ ml} = 5 \text{ ml}$

Total volume yang diberikan adalah $10 \text{ ml} + 5 \text{ ml} = 15 \text{ ml/kg BB}$

A.6. Kelompok perlakuan dosis III

Dosis yang digunakan adalah 20 ml/kg BB/hari.

Pengenceran antara sari kurma dan aquadest adalah 2 : 1

Volume aquadest yang diberikan untuk 1 kg BB adalah $\frac{1}{2} \times 20 \text{ ml} = 10 \text{ ml}$

Total volume yang diberikan adalah $20 \text{ ml} + 10 \text{ ml} = 30 \text{ ml/kg BB}$

LAMPIRAN C. Perhitungan pengenceran TEP

- Diketahui:

Kadar : $\geq 96\%$	Keterangan:
MR : 220,31 g/mol	M = Molaritas
Massa jenis : 0,919 g/ml	Satuan Molaritas = M atau mol/L
Volume : 25 ml	
- Konsentrasi TEP

$M = \frac{\text{Kadar} \times \text{Massa Jenis} \times 10}{\text{MR}}$ $M = \frac{96 \times 0,919 \times 10}{220,31}$ $M = 4,0045 \text{ mol/L}$	atau Massa = Massa jenis x Volume $\text{Massa} = 0,919 \text{ g/ml} \times (25 \text{ ml} \times 96/100)$ $\text{Massa} = 22,056 \text{ g}$ $\text{Mol} = \frac{\text{Massa}}{\text{MR}} = \frac{22,056 \text{ g}}{220,31 \text{ g/mol}} = 0,1001 \text{ mol}$ $M = \frac{\text{mol}}{\text{Volume}} = \frac{0,1001 \text{ mol}}{0,025 \text{ L}} = 4,0045 \text{ mol/L}$
--	---
- Larutan Stok I

Pipet 5 μ l larutkan dalam 10 ml

$$5\mu\text{l} = 0,005 \text{ ml}$$

$$\frac{0,005 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 4,0045 \text{ M} = 0,002 \text{ M} = 2,002 \text{ mM}$$
- Larutan Stok II

Pipet 1 ml stok I larutkan dalam 10 ml

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2,002 \text{ mM} = 0,2002 \text{ mM} = 2002 \mu\text{M}$$
- Pengenceran
 1. Konsentrasi 0,25 μ M

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 0,25 \mu\text{M}$$

$$x = 0,006 \text{ ml} = 6 \mu\text{l}$$
 2. Konsentrasi 0,5 μ M

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 0,5 \mu\text{M}$$

$$x = 0,0125 \text{ ml} = 12,5 \mu\text{l}$$

3. Konsentrasi 1 μM

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 1 \mu\text{M}$$

$$x = 0,025 \text{ ml} = 25 \mu\text{l}$$

4. Konsentrasi 2 μM

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 2 \mu\text{M}$$

$$x = 0,05 \text{ ml} = 50 \mu\text{l}$$

5. Konsentrasi 4 μM

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 4 \mu\text{M}$$

$$x = 0,1 \text{ ml} = 100 \mu\text{l}$$

6. Konsentrasi 8 μM

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 8 \mu\text{M}$$

$$x = 0,2 \text{ ml} = 200 \mu\text{l}$$

7. Konsentrasi 10 μM

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 10 \mu\text{M}$$

$$x = 0,25 \text{ ml} = 250 \mu\text{l}$$

8. Konsentrasi 16 μM

$$\frac{x}{5 \text{ ml}} \times 2002 \mu\text{M} = 16 \mu\text{M}$$

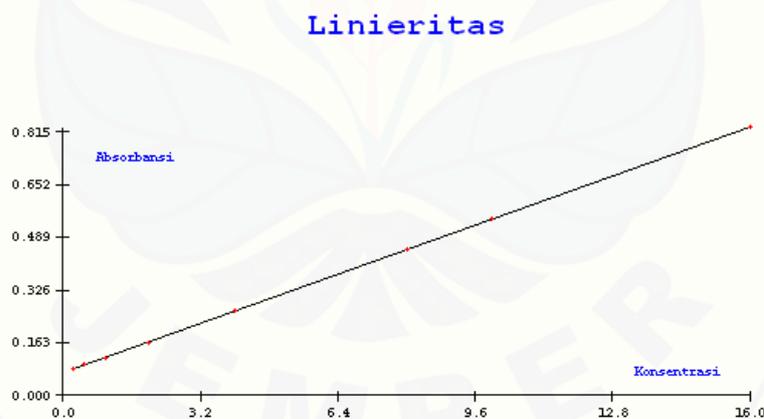
$$x = 0,4 \text{ ml} = 400 \mu\text{l}$$

LAMPIRAN D. Validasi Metode

1. Penentuan linieritas

Hubungan linier ideal dicapai ketika nilai r mendekati 1, koefisien variasi fungsi (V_{x0}) < 5% dan X_p lebih kecil dari konsentrasi terkecil yang digunakan, dalam hal ini < 0,25. Data-data tersebut diperoleh dari perangkat lunak komputer *Validation Method of Analysis*.

Konsentrasi	Absorbansi
0,25	0,082
0,5	0,095
1	0.108
2	0.156
4	0.280
8	0.490
10	0.607
16	0.815



Parameter	Hasil
Method	: Linearity
Probability	: 95%
Number of data	: 8
Line equation	: $Y = 0.07435697 + 0.04879387391X$
Corelation coefficient	: 0.9954433296

Sy value	: 0.00266483
Vx0 value	: 1.07473800%
Xp value	: 0.24283240

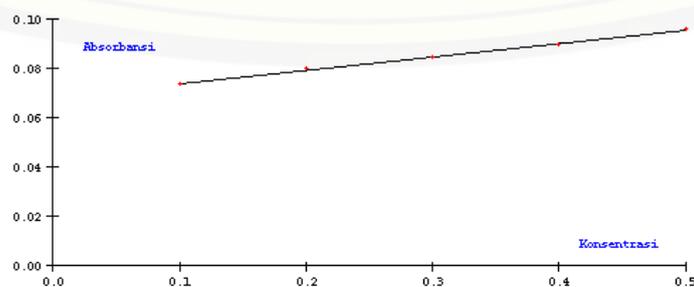
Terlihat hasil yang linier atau proporsional antara konsentrasi dan absorbansi yang ditunjukkan dengan $r > 0,995$, $Vx0$ 1,075% dan Xp 0,243 sehingga memenuhi kriteria penerimaan artinya kinerja metode yang digunakan untuk rentang konsentrasi yang diukur sangat baik.

2. Limit deteksi dan limit kuantifikasi

LD dan LK ditentukan dari persamaan regresi linear kurva standar rata-rata hasil penentuan linieritas dari 5 konsentrasi TEP dibawah konsentrasi uji linieritas. Parameter yang diamati dan harus terpenuhi terlebih dahulu adalah parameter linieritas seperti r , $Vx0$ dan Xp kemudian dapat dilihat nilai limit deteksi dan kuantifikasinya menggunakan perangkat lunak yang sama *Validation Method of Analysis*. Nilai LD tersebut menunjukkan jumlah TEP terkecil yang masih dapat diukur spektrofotometer UV-Vis, sedangkan LK menunjukkan konsentrasi terendah yang masih memenuhi kriteria presisi dan akurasi.

Konsentrasi	Absorbansi
0,1	0,074
0,2	0,08
0,3	0.085
0,4	0.09
0,5	0.096

LD - LK



Parameter	Hasil
Method	: DL-QL
Probability	: 95%
Number of data	: 5
Line equation	: $Y = 0.06880000 + 0.05400001X$
Corelation coefficient	: 0.99931480
Sy value	: 0.00036515
Vx0 value	: 2.25398100%
Xp value	: 0.04462958

Parameter	Hasil
Method	: DL - QL
Number of data	: 5
DL value	: 0.04462958
QL	: 0.14876526

3. Penentuan presisi

Presisi merupakan kedekatan hasil dari serangkaian pengulangan pengukuran. Repeatabilitas dilakukan dengan mengukur absorbansi standar sebanyak 3 replikasi pada 6 konsentrasi dan pengujian presisi intermediet dilakukan dengan prosedur yang sama namun diukur pada hari yang berbeda. Selain itu juga dilakukan repeatabilitas absorbansi sampel sebanyak 5 replikasi. Kriteria penerimaan presisi atau keseksamaan dinilai dari simpangan baku relatif atau koefisien variasi yang nilainya fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa.

Konsentrasi (μM)	Absorbansi					Absorbansi				
	Replikasi ke -			Rata - rata	% RSD	Hari ke -			Rata - rata	% RSD
	1	2	3			1	2	3		
1	0.108	0.110	0.112	0.110	1.818 %	0.116	0.107	0.110	0.111	4.128 %
2	0.156	0.153	0.159	0.156	1.923 %	0.147	0.150	0.156	0.151	3.035 %
4	0.280	0.289	0.284	0.284	1.594 %	0.278	0.290	0.284	0.284	2.113 %
8	0.490	0.508	0.512	0.503	2.331 %	0.496	0.487	0.503	0.495	1.622 %

10	0.607	0.610	0.618	0.612	0.931 %	0.591	0.603	0.612	0.602	1.750 %
16	0.815	0.818	0.825	0.820	0.634 %	0.807	0.793	0.820	0.807	1.674 %
	Rata-rata RSD				1.538 %					2,387 %

Nilai RSD yang didapat telah memenuhi syarat penerimaan uji presisi untuk uji dengan kadar analit > 1 % yaitu sebesar $\leq 2,7\%$ seperti yang terlihat pada tabel dibawah ini.

Tabel Persen perolehan kembali dan rentang kesalahan yang diijinkan pada konsentrasi analit yang berbeda (Harmita, 2004)

Konsentrasi analit (%)	% recovery	RSD %
10	98-102	$\leq 1,3$
> 10	98-102	$\leq 2,8$
> 1	97-103	$\leq 2,7$
> 0,1	95-105	$\leq 3,7$
0,01	90-107	$\leq 5,3$
0,001	90-107	$\leq 7,3$
0,000.1 (1 ppm)	80-110	≤ 11
0,000.01 (100 ppb)	80-110	≤ 15
0,000.001 (10 ppb)	60-115	≤ 21
0,000.000.1 (1 ppb)	40-120	≤ 30

Jumlah sampel (µl)	Abs.	Konsentrasi sampel (µM)	% v/v	Rata – rata % v/v	SD	% RSD
100	0.113	0.805	0.805 %	0.833 %	0.047	5.643 %
100	0.114	0.813	0.813 %			
100	0.117	0.867	0.867 %			
100	0.118	0.897	0.897 %			
100	0.112	0.784	0.784 %			

Adapun perhitungan tersebut diperoleh dengan cara berikut:

Misal pada replikasi 1

Absorbansi (y) 0,113 $\rightarrow y = 0,0487x + 0,0743$

$$\rightarrow x = 0,805 \mu\text{M}$$

Jumlah analit dalam larutan sampel :

$$\%v/v \rightarrow \frac{0,805}{100} \times 100\% = 0,805 \%$$

4. Penentuan akurasi

Metode akurasi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode adisi dengan menganalisis sampel lalu standar TEP ditambahkan dan dianalisis kembali dengan spektrofotometer uv-vis, selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar sebenarnya. Uji dilakukan dengan menghitung % recovery yang dihasilkan dari penambahan standar 30% dari kadar analit dalam sampel yang didapatkan dari hasil uji presisi. Dapat dilihat rata-rata % recovery dari sejumlah sampel tersebut sebesar 98.953 % yang berada pada rentang penerimaan yaitu 95-105%. untuk uji dengan kadar analit > 0,1 %.

Penambahan standar	Konsentrasi teoritis	Absorbansi	Konsentrasi		
			hasil percobaan (µM)	% Recovery	% RSD
30 %	1,083	0.127	1.072	98.984	8.541 %
		0.131	1.164	107.479	
		0.122	0.979	90.397	
Rata – rata				98.953	

Adapun data di atas diperoleh dengan cara sebagai berikut:

- Konsentrasi MDA dalam sampel 0,833 µM (dari hasil presisi) dalam 100 µl plasma darah, maka jumlah standar TEP yang di tambahkan:

$$\frac{30}{100} \times 0,833 = 0,25 \text{ µM dalam } 100 \text{ µl standar TEP}$$

- Konsentrasi teoritis
 $0,833 + 0,25 = 1,083 \text{ µM}$
- Hasil percobaan = 1,072

$$\% \text{ recovery} = \frac{1,072}{1,083} \times 100\% = 98,984\%$$

LAMPIRAN E. Kadar MDA plasma darah mencit

Perlakuan	Konsentrasi MDA (μM)	Rata-rata \pm SD
Normal	0,548	0,619 \pm 0,099
	0,616	
	0,575	
	0,733	
Kontrol (-) Aquadest	3,998	3,356 \pm 0,5005
	2,910	
	3,012	
	3,505	
Kontrol (+) Vitamin C	1,185	1,221 \pm 0,083
	1,267	
	1,123	
	1,308	
Sari kurma dosis 5 ml/kgBB	3,033	2,981 \pm 0,054
	2,910	
	2,971	
	3,012	
Sari kurma dosis 10 ml/kgBB	2,684	2,699 \pm 0,349
	2,663	
	2,704	
	2,745	
Sari kurma dosis 20 ml/kgBB	1,367	1,430 \pm 0,455
	1,472	
	1,452	
	1,431	

LAMPIRAN F. Hasil Analisis Data

1. Uji Normalitas

Tests of Normality^b

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Konsentrasi 1	.336	3	.	.857	3	.259
2	.254	4	.	.916	4	.515
3	.212	4	.	.963	4	.797
4	.213	4	.	.948	4	.702
5	.193	4	.	.973	4	.858
6	.254	4	.	.921	4	.541

a. Lilliefors Significance Correction

b. Konsentrasi is constant when Kelompok = 1. It has been omitted.

2. Uji Homogenitas

Descriptives

Konsentrasi		
	Minimum	Maximum
0	.616	.616
1	.548	.733
2	2.910	3.998
3	1.123	1.308
4	2.910	3.033
5	2.663	2.745
6	1.367	1.472
Total	.548	3.998

Test of Homogeneity of Variances

Konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.107 ^a	5	17	.000

a. Groups with only one case are ignored in computing the test of homogeneity of variance for Konsentrasi.

3. Uji Kruskal Wallis

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Konsentrasi	1	3	2.00
	2	4	20.63
	3	4	5.50
	4	4	17.38
	5	4	14.50
	6	4	9.50
	Total	23	

Test Statistics^{a,b}

	Konsentrasi
Chi-Square	20.274
df	5
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

4. Uji Mann-Whitney
 a. Kelompok 1 dan 2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	1	3	2.00	6.00
	2	4	5.50	22.00
	Total	7		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

b. Kelompok 1 dan 3

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	1	3	2.00	6.00
	3	4	5.50	22.00
	Total	7		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

c. Kelompok 1 dan 4

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	1	3	2.00	6.00
	4	4	5.50	22.00
	Total	7		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

d. Kelompok 1 dan 5

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi 1	3	2.00	6.00
5	4	5.50	22.00
Total	7		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

e. Kelompok 1 dan 6

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks

Konsentrasi	1	3	2.00	6.00
	6	4	5.50	22.00
Total		7		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

f. Kelompok 2 dan 3

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi 2	4	6.50	26.00
3	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309

Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

g. Kelompok 2 dan 4

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi 2	4	5.63	22.50
4	4	3.38	13.50
Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	13.500
Z	-1.307
Asymp. Sig. (2-tailed)	.191
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

h. Kelompok 2 dan 5

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	2	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

i. Kelompok 2 dan 6

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	2	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

j. Kelompok 3 dan 4

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	3	4	2.50	10.00
	4	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

k. Kelompok 3 dan 5

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi 3	4	2.50	10.00
5	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

l. Kelompok 3 dan 6

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	3	4	2.50	10.00
	6	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.05100	1.048390	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

m. Kelompok 4 dan 5

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	4	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

n. Kelompok 4 dan 6

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	4	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Konsentrasi	24	2.03475	1.035794	.548	3.998
Kelompok	24	3.48	1.778	0	6

o. Kelompok 5 dan 6

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Konsentrasi	5	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Konsentrasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

LAMPIRAN G. Dokumentasi



Gambar 1 dan 2. Proses Pemaparan Asap Rokok dan Pemberian Sari Kurma



Gambar 3. Preparasi sampel



Gambar 4. Pemeriksaan Kadar MDA