

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang merupakan salah satu metode penelitian yang tepat untuk menyelidiki hubungan sebab akibat (Zainuddin, 2000).

Penelitian ini dilakukan di Desa Ngebel, Bantul, Yogyakarta pada bulan Januari 2015. Subjek penelitian berjumlah 20 orang dan berusia rata-rata 40 tahun. Subjek penelitian diminta berpuasa terlebih dahulu selama ± 8 jam agar mengurangi gangguan hasil pemeriksaan karena makanan, setelah itu dilakukan pengambilan sampel darah dan diukur kadar MDA awal kemudian diberikan rebusan daun sirsak (*Annona Muricata* L.) sebagai perlakuan dengan dosis 2 gram dalam 200 ml selama 8 hari dua kali sehari secara berturut-turut, setelah itu diambil sampel darah dan diukur kembali kadar MDA dan diperoleh data kuantitatif kadar MDA pada perokok aktif setelah perlakuan. Pengukuran kadar MDA dilakukan di Laboratorium Universitas Gadjah Mada. Pada penelitian ini diperoleh hasil pengukuran rata-rata kadar MDA sebelum dan setelah perlakuan yang disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Kadar rata-rata MDA sebelum dan setelah perlakuan

Kadar MDA sebelum ($\mu\text{mol/L}$)	Kadar MDA setelah ($\mu\text{mol/L}$)
0,726 \pm 0,350	0,460 \pm 0,076

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa terdapat selisih kadar MDA sebelum dan setelah perlakuan yaitu sebesar 0,307 \pm 0,632 $\mu\text{mol/L}$. Sebelum

dilakukan pengujian pengaruh rebusan daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar MDA, maka terlebih dahulu dilakukan pengujian normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* yang hasilnya menunjukkan P sebesar 0,183 ($p > 0,05$) sehingga data terdistribusi normal dan pengujian hipotesis penelitian dapat dilanjutkan dengan menggunakan uji *Paired Simple T-Test*. Hasil analisis uji statistik *Paired Simple T-Test* tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Parametrik

Variabel	P
Kadar MDA sebelum perlakuan dengan Kadar MDA setelah perlakuan	0,003

Tabel 4. Menunjukkan bahwa hasil uji *Paired Simple T-Test* pada pemberian rebusan daun sirsak (*Annona muricata* L.) menunjukkan adanya perbedaan signifikansi kadar MDA sebelum dan setelah perlakuan ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,003 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa daun sirsak sebagai antioksidan dapat menekan kenaikan kadar MDA sebagai efek radikal bebas yang ditimbulkan oleh asap rokok.

Pada penelitian ini tidak menggunakan kelompok kontrol sehingga kelompok kontrol tidak dapat dibandingkan dengan kelompok yang diberi perlakuan rebusan daun sirsak maupun uji kebermaknaan antar kelompok uji dan kontrol.

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian seduhan daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar MDA pada perokok. Rebusan

daun sirsak dapat menurunkan kadar MDA pada perokok dengan menghambat stress oksidatif dan peroksidasi lipid yang terjadi karena meningkatnya radikal bebas yang disebabkan asap rokok. Asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas *eksternal* yang menyebabkan kerusakan di dalam tubuh (Tirtosastro dkk., 2010).

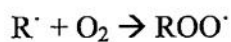
Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang kehilangan pasangan elektronnya. Elektron yang tidak berpasangan menyebabkan radikal tidak stabil dan sangat reaktif, selalu berusaha untuk mencari pasangan baru sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak, maupun DNA) dalam tubuh (Raharjo dkk., 2005).

Jika peningkatan radikal bebas lebih banyak dibandingkan dengan antioksidan, maka radikal bebas dapat menyerang sistem antioksidan yang menyebabkan kerusakan pada komponen-komponen seluler seperti membran lipid, protein, karbohidrat dan DNA. Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yaitu reaksi berantai, kemudian menghasilkan senyawa radikal bebas baru secara terus menerus dan peroksidasi terus berlanjut. Proses secara keseluruhan adalah sebagai berikut : (Botham & Mayes, 2006).

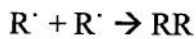
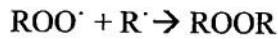
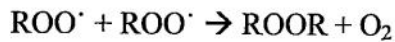
1. Inisiasi



2. Propagasi



3. Terminasi



Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas bermacam macam mulai dari kerusakan sel atau jaringan penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker. Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak lemak tak jenuh ganda pada membran sel, akibatnya dinding sel menjadi rapuh. Senyawa oksigen reaktif ini juga mampu merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol dalam menimbulkan aterosklerosis. Senyawa radikal bebas ini juga berpotensi merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem info genetika dan berlanjut pada pembentukan sel kanker. Jaringan lipid juga akan dirusak oleh senyawa radikal bebas sehingga terbentuk peroksida yang memicu munculnya penyakit degeneratif. Untuk mengurangi peroksidasi lipid yang terjadi, dapat digunakan antioksidan.

Berdasarkan studi beberapa tahun terakhir pencarian antioksidan alami terutama yang berasal dari tumbuhan mengalami peningkatan. Hal ini didukung dengan banyaknya studi epidemiologis yang mengungkapkan bahwa konsumsi dari buah-buahan dan sayuran meningkat terkait manfaat buah-buahan dan sayur-sayuran yang dapat menurunkan risiko, menghambat perkembangan beberapa penyakit kronis dan penyakit degeneratif. Beberapa antioksidan alami memiliki sifat hidrofilik (misalnya asam askorbat) dan lain-lain yang bersifat lipofilik (misalnya karotenoid) (Raharjo dkk, 2005).

Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun sirsak mengandung flavonoid berjenis flavon dan flavonol. Hal tersebut disebabkan oleh pita serapan maksimum yang dihasilkan berada pada rentang jenis flavon dan flavonol yang memiliki daerah pita serapan maksimum pada 273 nm untuk pita I dan 315 untuk pita II. Menurut Markham (2008) flavonoid berjenis flavon memiliki daerah pita serapan maksimum pada rentang 250-280 nm pada pita I dan 310-350 nm. Sedangkan untuk flavonoid berjenis flavonol memiliki daerah pita serapan maksimum pada rentang 250-280 nm dan 330-385 nm. Dari uji identifikasi flavonoid yang dilakukan pada daun sirsak menunjukkan hasil warna kuning kemerahan dimana warna tersebut merupakan ciri dari flavonoid jenis flavon. Daun sirsak juga mengandung senyawa kimia lainnya seperti triterpenoid, saponin, polifenol dan metabolit (Neldawati dkk, 2013).

Daun sirsak juga mengandung gugus fenol yang mempunyai daya antioksidan lebih poten dari vitamin C dan vitamin E, sehingga dapat meredam reaksi rantai yang ditimbulkan ROS dengan baik, menyebabkan produksi MDA terhambat. Hal ini disebabkan ROS yang tidak dapat dinetralkan oleh antioksidan endogen, akan dinetralkan oleh berbagai antioksidan yang terkandung dalam daun sirsak seperti flavonoid dapat memberikan electron pada $\bullet\text{O}_2^-$ dan mengubahnya menjadi O_2 . Pemberian daun sirsak dapat mencegah terjadinya penumpukan $\bullet\text{O}_2^-$ sehingga aktifitas SOD dapat dipertahankan dan keseimbangan antara oksigen dan antioksidan dapat terjaga, dengan demikian stress oksidatif dapat dihindari. Dampak negatif ROS terhadap tubuh terjadi melalui reaksi rantai (*Chain*

Reaction). Reaksi rantai tersebut dapat dihentikan oleh antioksidan pemutus rantai seperti vitamin C dan vitamin E (Suryohudoyo, 2005).

Hal ini dibuktikan dengan kadar rata-rata MDA pada perokok lebih rendah setelah diberikan seduhan daun sirsak yaitu $0,465 \pm 0,076 \mu\text{mol/L}$ dibandingkan dengan sebelum diberikan rebusan daun sirsak yaitu $0,726 \pm 0,350 \mu\text{mol/L}$.

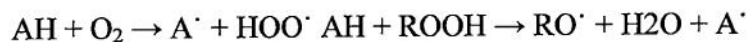
Daun sirsak mengandung beragam antioksidan kuat terutama terpenoid, flavonoid dan fenol. Antioksidan tersebut bekerjasama dalam mencegah stres oksidatif dan menetralkan dampak negatif radikal bebas, sehingga menimbulkan dampak protektif yang optimal. Beberapa antioksidan yang bekerjasama, membentuk suatu jaringan kerja atau bekerja sama dengan menghasilkan daya protektif yang kuat (Harjanto, 2003).

Flavonoid yang terdapat pada rebusan daun sirsak juga dapat menghambat proses terjadinya peroksidasi lipid pada tahap inisiasi, sehingga radikal bebas tidak dapat berkembang menjadi radikal bebas yang baru (Murray, 2009). Flavonoid dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ($R\cdot$, $ROO\cdot$) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipid dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Turunan radikal antioksidan ($A\cdot$) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Radikal-radikal antioksidan ($A\cdot$) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).

Flavonoid ini diduga berpotensi mengendalikan dan mengurangi peroksidase lipid melalui mekanisme antioksidan pemutus rantai dengan menangkap radikal ROO'. Flavonoid dapat memberikan donor H⁺ dan berikatan dengan radikal ROO' sehingga radikal ini dapat bersifat stabil. Kestabilan ini menyebabkan terhentinya reaksi berantai peroksidase lipid. Reaksi penghambatan tertera sebagai berikut.



Pada penelitian ini perokok yang diberi seduhan daun sirsak dengan dosis 2 gram dalam 200 ml memiliki kadar rata-rata MDA yang lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak diberikan seduhan daun sirsak. Hal ini disebabkan antioksidan berupa flavonoid memiliki aktivitasnya menurunkan bahkan berperan sebagai prooksidan. Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Gordon, 1990). Aktivitas antioksidan sebagai prooksidan terlihat pada reaksi berikut ini.



Wresdiati (2003) menjelaskan bahwa MDA merupakan produk akhir dari oksidasi lipid. Tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid yang secara tidak langsung juga menunjukkan tingginya jumlah radikal bebas. Tingginya jumlah radikal bebas di dalam tubuh dapat disebabkan oleh adanya stres oksidatif. Sreejai dan Jaya (2010) mengungkapkan bahwa stres oksidatif

akibat peningkatan suhu lingkungan bisa menyebabkan radikal bebas yang pada akhirnya dapat meningkatkan kadar MDA.

Pada penelitian ini rokok yg dihisap perokok adalah sebagai agen yang dapat meningkatkan peroksidasi lipid dan menggunakan MDA sebagai indikator kenaikannya dan seduhan daun sirsak sebagai antioksidan alami untuk menghambat peroksidasi lipid yang terjadi, sehingga seduhan daun sirsak berpengaruh dalam menurunkan kadar MDA pada perokok. Hal ini dapat dibuktikan dari hasil analisis parametrik dengan menggunakan *Paired Sample T-Test* diperoleh signifikansi kadar MDA sebesar 0,003 ($p < 0,05$), terdapat perbedaan secara statistik yang bermakna artinya dalam hal ini terjadi penurunan kadar MDA pada sebelum dengan setelah perlakuan.