

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Perbedaan Rerata Berat Badan Tikus Putih (*Rattus novergicus*) *Pre Test* dan *Post Test* yang Diinduksi Asap Rokok dan Diberi Ekstrak Kulit Jeruk (*Citrus Sinensis*)

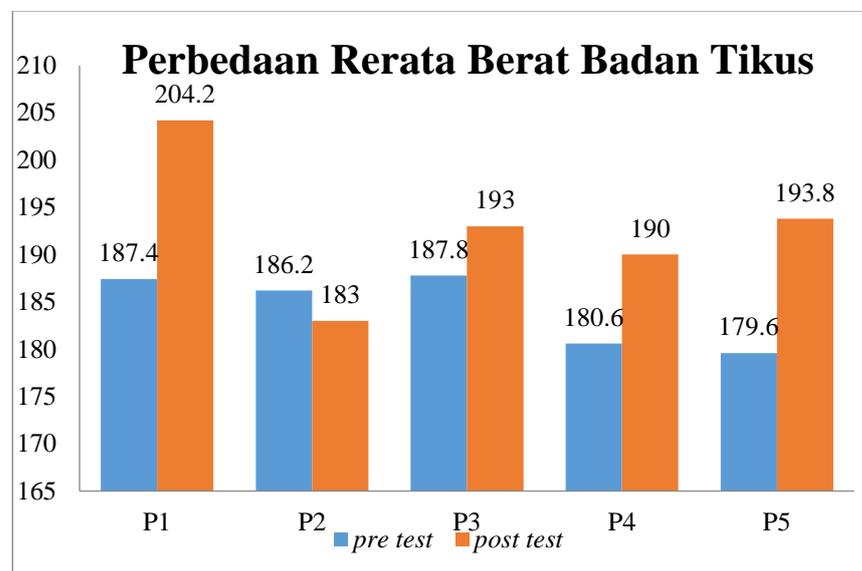
Penelitian dimulai dengan mengukur berat badan pada masing-masing objek penelitian. Pengukuran pertama dilakukan pada tanggal 24 September 2016 untuk memenuhi kriteria inklusi. Pengukuran kedua dilakukan pada tanggal 27 September 2016 untuk menentukan dosis ekstrak kulit jeruk manis yang akan diberikan pada objek penelitian. Pengukuran ketiga dilakukan pada tanggal 12 Oktober 2016 untuk melihat berat badan akhir setelah penelitian.

Rerata berat badan tikus putih dianalisa menggunakan analisa deskriptif. Hasil analisa data dapat dilihat lebih jelas pada tabel 3.

Tabel 3. Rerata Berat Badan Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) *Pre Test* dan *Post Test* yang Diinduksi Asap Rokok dan Diberi Ekstrak Kulit Jeruk (*Citrus Sinensis*)

| Kelompok | Rerata BB (gram) \pm SD | | Kenaikan BB (gram) |
|----------|---------------------------|------------------|--------------------|
| | <i>Pre test</i> | <i>Post test</i> | |
| P1 | 187,4 \pm 5,45 | 204,2 \pm 5,89 | 16,8 |
| P2 | 186,2 \pm 8,46 | 183 \pm 8,15 | -3,2 |
| P3 | 187,8 \pm 5,80 | 193 \pm 5,24 | 5,2 |
| P4 | 180,6 \pm 6,02 | 190 \pm 5,14 | 9,4 |
| P5 | 179,6 \pm 6,80 | 193,8 \pm 6,37 | 14,2 |

Data dilaporkan dalam bentuk rerata \pm SD (standar deviasi) Tabel 3 menunjukkan bahwa kenaikan rata-rata berat badan tertinggi yaitu pada kelompok kontrol negatif (tidak diberikan perlakuan) sebesar 16,8 gram. Kelompok kontrol positif (diberi induksi asap rokok tanpa pemberian ekstraksi kulit jeruk) mengalami penurunan rata-rata berat badan sebesar 3,2 gram. Kelompok dosis 1 (pemberian ekstrak kulit jeruk 37,5 mg/kgBB dan induksi asap rokok), 2 (pemberian ekstrak kulit jeruk 75 mg/kgBB dan induksi asap rokok), dan 3 (pemberian ekstrak kulit jeruk 112,5 mg/kgBB dan induksi asap rokok) rata-rata berat badan tertinggi yaitu pada kelompok dosis 3 yang mengalami kenaikan sebesar 14,2 gram. Perbedaan berat badan tikus putih (*rattus novergicus*) *pre test* dan *post test* perlakuan dapat dilihat lebih jelas pada grafik di bawah ini.



Gambar 8. Grafik perbedaan rerata Berat Badan Tikus *pre test* dan *post test*

2. Perbedaan Rerata MDA Tikus Putih (*Rattus novergicus*) *Pre Test* dan *Post Test* yang Diinduksi Asap Rokok dan Diberi Ekstrak Kulit Jeruk (*Citrus sinensis*)

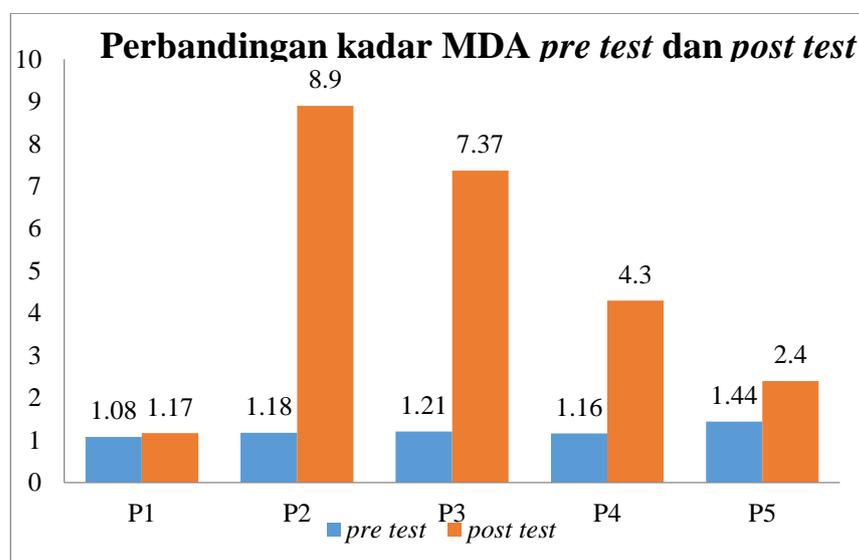
Pemeriksaan *pre test* dan *post test* perlakuan kadar MDA tikus putih (*Rattus novergicus* menggunakan metode TBARs. Hasilnya ditetapkan sebagai data *pre test* dan *post test*, selanjutnya karena data berjumlah <50 maka diuji persebarannya menggunakan uji normalitas Saphiro-Wilk. Hasil analisa data tidak terdistribusi normal sehingga untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan kadar MDA *pre test* dan *post test* menggunakan uji analisa statistik Wilcoxon. Hasil uji analisa statistik perbedaan kadar MDA *pre test* dan *post test* dapat dilihat paa tabel 2.

Tabel 4. Perbedaan Rerata MDA Tikus Putih (*Rattus novergicus*) *Pre Test* dan *Post Test* yang Diinduksi Asap Rokok dan Diberi Ekstrak Kulit Jeruk (*Citrus sinensis*)

| Kelompok | Rerata MDA(nmol/mL) \pm SD | | Nilai p (Wilcoxon test) |
|----------|------------------------------|------------------|----------------------------|
| | <i>Pre test</i> | <i>Post test</i> | |
| P1 | 1,08 \pm 0,08 | 1,17 \pm 0,13 | 0,043 |
| P2 | 1,18 \pm 0,19 | 8,90 \pm 0,33 | 0,042 |
| P3 | 1,21 \pm 0,12 | 7,37 \pm 0,26 | 0,043 |
| P4 | 1,16 \pm 0,16 | 4,30 \pm 0,29 | 0,043 |
| P5 | 1,44 \pm 0,18 | 2,40 \pm 0,13 | 0,043 |

Data dilaporkan dalam bentuk rerata \pm SD (standar deviasi). Sebaran data diuji dengan Saphiro-Wilk: $p < 0,05$: data tidak terdistribusi normal. Uji *Wilcoxon* setelah transormasi data tidak berhasil: $p < 0,05$: berbeda bermakna.

Tabel 4 menunjukkan perbedaan bermakna kadar MDA pada tikus putih (*Rattus novergicus*) *pre test* dan *post test* perlakuan ($p < 0,05$). Kenaikan terjadi pada semua kelompok dengan kenaikan tertinggi yaitu pada kelompok P2 (diberi induksi asap rokok tanpa pemberian ekstrak kulit jeruk). Perbedaan kadar MDA *pre test* dan *post test* dapat dilihat lebih jelas pada grafik di bawah ini.



Gambar 9. Grafik Perbandingan Kadar MDA Tikus Putih *pre test* dan *post test*

3. Perbedaan Selisih Peningkatan Rerata Kadar MDA Tikus Putih (*Rattus novergicus*) *Pre Test* dan *Post Test* yang Diinduksi Asap Rokok dan Diberi Ekstrak Kulit Jeruk (*Citrus sinensis*)

Data *pre test* dan *post test* rerata kadar MDA darah tikus putih (*rattus novergicus*) yang didapat, kemudian dihitung besar selisih untuk masing-masing kelompok. Hasil perhitungan selisih kadar MDA darah tikus putih (*Rattus novergicus*) *pre test* dan *post test* adalah sebagai berikut.

Tabel 5. Selisih Peningkatan Rerata Kadar MDA Tikus Putih (*Rattus novergicus*) *Pre Test* dan *Post Test* yang Diinduksi Asap Rokok dan Diberi Ekstrak Kulit Jeruk (*Citrus sinensis*)

| kelompok | Rerata peningkatan MDA (nmol/mL) \pm SD | Nilai p (Kruskal-Wallis) |
|----------|---|--------------------------|
| P1 | 0,09 \pm 0,08 | 0,000 |
| P2 | 7,71 \pm 0,42 | 0,000 |
| P3 | 6,16 \pm 0,20 | 0,000 |
| P4 | 3,14 \pm 0,17 | 0,000 |
| P5 | 0,96 \pm 0,24 | 0,000 |

Kruskal-Wallis Test: p < 0,05: berbeda bermakna

Tabel 5 menunjukkan selisih peningkatan kadar MDA *pre test* dan *post test*. Kelompok yang mengalami peningkatan kadar mda tertinggi yaitu pada kelompok P2 yang diberi induksi asap rokok tanpa ekstrak kulit jeruk manis. Kelompok P3 (ekstrak kulit jeruk manis dengan dosis 37,5 mg/kgBB) mengalami peningkatan rata-rata kadar MDA tertinggi diantara semua kelompok perlakuan dengan nilai 6,16 nmol/mL, sedangkan kelompok P5 (dosis ekstrak kulit jeruk 112,5mg/kgBB) mengalami peningkatan rata-rata kadar MDA paling rendah diantara semua kelompok perlakuan dengan nilai 0,96 nmol/mL. Perbedaan bermakna terdapat pada semua kelompok percobaan dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$).

4. Hasil Uji Perbandingan Kadar MDA Antar Kelompok

Data tidak teristribusi normal sehingga untuk menguji antar kelompok perlakuan pada *post test* menggunakan uji *Mann-Whitney*. Hasil dari uji tersebut dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Perbandingan Antar Kelompok

| Kelompok | | Nilai p |
|----------|----|---------|
| P1 | P2 | 0,009 |
| | P3 | 0,009 |
| | P4 | 0,009 |
| | P5 | 0,009 |
| P2 | P3 | 0,009 |
| | P4 | 0,009 |
| | P5 | 0,009 |
| P3 | P4 | 0,009 |
| | P5 | 0,009 |
| P4 | P5 | 0,009 |

Mann Whitney Test: p < 0,05: berbeda bermakna

Tabel 6 menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok $p = 0,009$ ($p < 0,05$).

B. PEMBAHASAN

Analisa data pada tabel 4 menunjukkan perbedaan bermakna pada kelima kelompok ($p < 0,05$). Tabel 4 menunjukkan pada kelompok P2 mengalami kenaikan rerata kadar MDA tertinggi bila dibandingkan dengan kelompok lainnya, yaitu 7,71 nmol/mL. Peningkatan kadar MDA pada P2 menunjukkan bahwa paparan asap rokok dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang memicu terjadinya peroksidasi lipid dan akan meningkatkan produksi MDA di dalam tubuh (Permatasari *et al*, 2013). Penelitian oleh Kumar *et al.*, (2015) membuktikan bahwa pada plasma perokok terdapat konsentrasi MDA yang lebih tinggi dibanding dengan yang bukan perokok, penelitian ini dilakukan kepada 100 subjek dengan 50 subjek sehat dan 50 lainnya merupakan perokok kronik atau berat dan didapatkan hasil yang signifikan dengan nilai $p=0,0001$ ($p < 0,05$). Penelitian lainnya oleh Zhou *et al.*, (2015) juga membuktikan adanya kenaikan kadar MDA secara signifikan

$p < 0,05$ pada kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok sebanyak 40 batang rokok perhari.

Tabel 5 menunjukkan bahwa perbandingan hasil rerata kadar MDA terbaik berada pada kelompok P5 dengan penurunan kadar MDA 0,96 nmol/mL, yang mendekati kelompok normal atau kelompok negatif (P1) 0,09 nmol/mL bila dibandingkan dengan kelompok dosis lainnya (P3 dan P4). Hasil ini sejalan dengan penelitian Jain dan Somani (2014) yang meneliti tentang efek hesperidin (salah satu flavonoid/antioksidan yang terdapat pada jeruk) yang diberikan pada dosis tertinggi di penelitiannya memiliki kadar MDA sebesar 4,12 nmol/mg dan mendekati kelompok kontrol dengan kadar MDA sebesar 3,82 nmol/mg pada tikus yang diinduksi dengan streptozotocin (STZ) dan diet tinggi lemak nefropati diabetik.

Pada kelompok normal memiliki kadar MDA yang lebih rendah dibanding kelompok perlakuan hal ini dapat terjadi dikarenakan kadar MDA yang terbentuk sangat bergantung pada jumlah stres oksidatif dan hanya mampu dinetralisasi oleh antioksidan sedangkan pada kondisi normal kadar MDA dapat terbentuk pada kadar yang rendah. Saat keadaan normal, peroksidasi lipid di dalam tubuh masih dapat diatasi oleh antioksidan alami (antioksidan endogen) yaitu katalase, *superoksida dismutase* (SOD) dan *glutathion peroksidase* (Latifa, 2015).

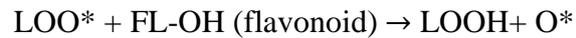
Pada tabel 6 menunjukkan bahwa hasil rerata kadar MDA pada pemberian ekstrak kulit jeruk kelompok P3, P4 dan P5 mengalami penurunan secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok P2 dengan $p = 0,009$

($p < 0,05$). Penurunan kadar MDA ini (bila dibanding kelompok P2) menunjukkan bahwa di dalam ekstrak kulit jeruk terkandung senyawa fenolik utama yaitu asam *hydroxycinnamic* (HCA) dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Park *et al.*, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Ciftci, *et al.*, (2016) membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit jeruk dapat menurunkan kadar MDA $p = 0,001$ ($p < 0,05$) di jantung dan jaringan hati. Data ini juga sesuai dengan penelitian (Mostafa *et al.*, 2015) yang melaporkan bahwa ekstrak kulit jeruk menunjukkan efek hepatoprotektif yang ampuh karena dapat mencegah kerusakan oksidatif pada tikus yang diinduksi dengan parasetamol. Menurut penelitian Hegazy dan Ibrahim (2012), kulit jeruk mengandung potensi antioksidatif radikal yang baik, selain itu menurut Park *et al.*, (2014) kulit jeruk mengandung konsentrasi antioksidan yang tinggi bila dibandingkan dengan daging buahnya.

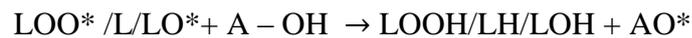
Menurut Halliwell dan Gutteridge (1999) dalam Widowati (2005), mekanisme kerja antioksidan flavonoid meliputi :

1. Menekan pembentukan radikal bebas atau ROS dengan cara menghambat enzim, pengkelatan ion logam (*metal ion chelating*) yang terlibat produksi radikal bebas.
2. Meredam radikal bebas (*free radicals scavengers*)

Peroksidasi lipid dapat dicegah pada tahap inisiasi dengan *radical scavengers*, sementara reaksi pro-pagasi dapat dicegah dengan *peroxy-radical scavenger* diantaranya dengan antioksidan flavonoid (Shahidi, 1999 dalam Widowati, 2005) :



Terminasi radikal lipid (L^*), radikal lipid peroksil (LOO^*), radikal alkoksil (LO^*) yang terbentuk melalui reinisiasi dari peroksidasi lipid, dapat dilakukan oleh antioksidan fenolik.



A-OH : fenol (α -tokoferol, flavonoid)

AO* : radikal fenoksi.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan juga dibahas oleh Maher *et al.*, (2006) dalam Kurniawati dan Lestari (2016) yaitu menekan pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dengan menghambat enzim dalam pembentukan ROS dan meningkatkan regulasi serta proteksi dari antioksidan. Flavonoid juga dapat melindungi membran lipid dari kerusakan oksidatif, sehingga peroksidasi lipid dapat dihambat dan peningkatan kadar Malondialdehid (MDA) dapat dicegah.

Menurut Pantsulaia *et al.*, (2014), dosis yang dapat menyebabkan toksisitas yaitu 150 mg/kgBB sedangkan dosis potensial adalah 75 mg/kgBB. Pada penelitian ini menggunakan dosis terendah 37,5 mg/kgBB, dosis tengah 75 mg/kgBB dan dosis tertinggi 112,5 mg/kgBB. Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa semakin tinggi dosis terapi maka semakin dekat hasil kadar MDA dengan kelompok normal atau kelompok negatif (P1) dan dosis tertinggi pada penelitian ini belum termasuk dosis toksis.