

# Pengaruh Ekstrak Etanol 96 % Daun Asam Jawa terhadap Kadar Katalase Darah Mencit yang Dipapar Asap Rokok

Gusti Ayu Rai Saputri<sup>1\*</sup>, Restika Ananda Putri<sup>1</sup>, Dessy Hermawan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati

<sup>2</sup>Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati

Sitasi: Putri, R. A., Saputri, G. A. R., & Hermawan, D. (2024). Pengaruh Ekstrak Etanol 96% Daun Asam Jawa terhadap Kadar Katalase Darah Mencit yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 544–561.  
<https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.583>

Submitted: 19 Agustus 2024

Accepted: 29 November 2024

Published: 21 Desember 2024

\*Penulis Korespondensi:

Gusti Ayu Rai Saputri

Email:

[gustifarmasi@gmail.com](mailto:gustifarmasi@gmail.com)



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

## ABSTRAK

Asap rokok mengandung bahan kimia toksik yang berperan sebagai pemicu pembentukan radikal bebas dan berujung pada keadaan stress oksidatif yang ditandai dengan penurunan kadar katalase darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol 96% daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) dengan variasi dosis 150, 200, dan 250 mg/25 gBB terhadap kadar katalase darah mencit yang dipapar asap rokok. Metode penelitian ini yaitu eksperimental dengan pendekatan Pre and post control group design. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu K 1 (hanya diberi pakan dan minum), K 2 perlakuan negatif (diberi paparan asap rokok dan CMC-Na 0,5%), K 3 perlakuan positif (diberi paparan asap rokok dan Vitamin E), K 4, K 5, dan K 6 diberi paparan asap rokok dan ekstrak daun Asam Jawa dosis 150, 200, dan 250 mg/25 gBB. Pengukuran aktivitas katalase dilakukan secara Spektrofotometri pada panjang gelombang 280 nm. Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar katalase darah pada K 1, K 2, K 3, K 4, K 5 dan K 6 secara berurutan adalah 0,158 U/mg, 0,029 U/mg, 0,220 U/mg, 0,184 U/mg, 0,272 U/mg dan 0,303 U/mg dengan uji One-Way ANOVA didapatkan nilai  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ). Uji post hoc Duncan memiliki perbedaan tingkat signifikansi pada kelompok yang berbeda masing-masing konsentrasi. Semakin besar konsentrasi yang ditambahkan semakin signifikan dampaknya terhadap kadar katalase darah yang dipapar asap rokok.

**Kata kunci :** Asap Rokok, Darah, Ekstrak Daun Asam Jawa , Katalase

## ABSTRACT

Cigarette smoke contains toxic chemicals that act as triggers for the formation of free radicals and lead to oxidative stress conditions characterized by decreased blood catalase levels. This study aims to determine the effect of 96% ethanol extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.) with dose variations of 150, 200, and 250 mg/25 gBW on blood catalase levels in mice exposed to cigarette smoke. This research method is experimental with a Pre and post control group design approach. The test animals were divided into 6 treatment groups, namely K 1 (only given food and drink), K 2 negative treatment (given exposure to cigarette smoke and 0.5% CMC-Na), K 3 positive treatment (given exposure to cigarette smoke and Vitamin E), K 4, K 5, and K 6 were exposed to cigarette smoke and tamarind leaf extract at doses of 150, 200, and 250 mg/25 gBW. Measurement of catalase activity was carried out by Spectrophotometry at a wavelength of 280 nm. The results showed that the average blood catalase levels in K 1, K 2, K 3, K 4, K 5 and K 6 were respectively 0.158 U/mg, 0.029 U/mg, 0.220 U/mg, 0.184 U/mg, 0.272 U/mg and 0.303 U/mg with the One-Way ANOVA test obtained a  $p$  value = 0.001 ( $p < 0.05$ ). Duncan's post hoc test has different levels of significance in different groups of each concentration. The greater the concentration added, the more significant the impact on blood catalase levels exposed to cigarette smoke.

**Keywords :** Cigarette Smoke, Blood, Tamarind Leaf Extract, Catalase

## PENDAHULUAN

Merokok adalah salah satu kebiasaan dari faktor lingkungan sosial yang dapat mempengaruhi kesehatan pada tubuh manusia. Berdasarkan data WHO tahun 2015 menyatakan bahwa jumlah perokok mencapai angka 72.723.300 dan akan terus meningkat mencapai angka 96.776.800 sampai tahun 2025 dengan prevalensi usia 15-24 tahun pada jenis

kelamin laki-laki mencapai 54,6% yang nantinya akan bertambah menjadi 75% sedangkan pada jenis kelamin perempuan mencapai 11,1% bertambah menjadi 0,7% perokok sampai tahun 2025 (Janah & Martini, 2017).

Asap rokok mengandung  $10^{14-16}$  molekul oksidan seperti superoksida, hidrogen peroksida, hidroksil dan peroksil serta bahan kimia toksik

seperti tar, nikotin dan karbomonoksida yang berperan sebagai pemicu pembentukan radikal bebas (Tirtosastro *et al.*, 2010). Menghirup asap rokok dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang sangat *reactive* dan mudah bereaksi dengan protein, lipid serta *Asam deoksiribonukleat* dan berujung pada keadaan stress oksidatif. Biomarker dari stress oksidatif ditandai dengan penurunan kadar katalase (CAT) dan peningkatan malondialdehid yang dihasilkan dari peroksidasi lipid dalam sel yang berlebihan (Rita *et al.*, 2015).

Secara fisiologis, tubuh memiliki senyawa khusus yang disebut antioksidan endogen untuk melindungi diri dalam menangkal serangan radikal bebas. Salah satu antioksidan endogen yang berperan dalam tubuh yaitu enzim katalase. Katalase adalah salah satu antioksidan dalam tubuh (Intraselular) yang menunjukkan status oksidan dan berfungsi sebagai bioindikator stres oksidatif serta sebagai lini pertama mekanisme pertahanan tubuh terhadap aktivasi ROS. Katalase bertindak dengan cara memecah hidrogen peroksid ( $H_2O_2$ ) untuk melindungi tubuh dari radikal hidroksil yang *reactive*. Hidrogen peroksid ( $H_2O_2$ ) adalah radikal bebas yang kurang reaktif dan dapat terurai menjadi  $H_2O$  serta  $O_2$  oleh glutathione peroxidase atau enzim katalase (Kunci *et al.*, 2015).

Namun, tingginya radikal bebas mengakibatkan menurunnya antioksidan pada enzim katalase yang secara langsung menetralisasi radikal bebas dan dimetabolisme menjadi senyawa lain di dalam tubuh (Tarnajaya *et al.*, 2018). Radikal bebas yang ditemukan pada tembakau memiliki kemampuan untuk mengurangi kadar antioksidan intraseluler yang ada di sel sehingga menurunkan jumlah kadar katalase didalam tubuh yang bertindak sebagai antioksidan endogen (Nurhidayah *et al.*, 2022).

Akibatnya, dapat terjadinya kekejangan otot yang menyebabkan otot paralisis mengalami kegagalan saluran pernafasan (pertukaran tidak normal antara  $O_2$  dan  $CO_2$ ). Kegagalan tersebut ditandai dengan peningkatan kadar hemoglobin dan hematokrit. Peningkatan nilai hemoglobin mengakibatkan perubahan kekentalan darah sehingga menyebabkan kelebihan produksi protein plasma seperti protombin, fibrinogen, globulin dan albumin.

Penurunan katalase dapat ditingkatkan dengan penambahan asupan antioksidan yang lebih tinggi yaitu antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh seperti daun Asam Jawa. Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tannin,

saponin, fenolik dan steroid yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan.

Daun Asam Jawa memiliki kandungan antioksidan yang tinggi yang dianggap memiliki kemampuan untuk mengatasi kerusakan oksidatif dan menangkal radikal bebas dalam tubuh. Kandungan antioksidan seperti flavonoid dapat mencegah radikal bebas dengan cara memperlambat reaksi oksidasi. Radikal bebas juga memperoleh elektron antioksidan sehingga radikal bebas dapat stabil dan reaksi berantai terhenti (Siregar *et al.*, 2023).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Siregar *et al.*, 2023) dalam penelitian ini digunakan ekstrak daun Asam Jawa variasi dosis 150 mg/kg berat badan/hari; 200 mg/kg berat badan/hari dan 250 mg/kg berat badan/hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Asam Jawa dengan dosis 250 mg/kg berat badan/hari merupakan dosis ekstrak yang paling optimal terhadap kenaikan kadar LDH jantung tikus yang diinduksi minyak jelantah.

Penelitian yang dilakukan oleh Warlan Sugiyono dan Arini Chinthia Apriyanti (2018) hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol daun Asam Jawa mengandung saponin, alkaloid, dan fenol yang menunjukkan aktivitas antioksidan maksimal pada konsentrasi etanol 30%. Penelitian ini diperkuat dengan adanya fenol sebagai gugus antioksidan pada spektrofotometer Infra-merah, sehingga ekstrak daun Asam Jawa dapat menjadi sumber antioksidan alami yang bermanfaat. Hasil penelitian tentang skrining fitokimia pada daun Asam Jawa ditemukan adanya kandungan steroid/terpenoid, flavonoid, tanin, dan alkaloid, pada daun Asam Jawa yang tua (Husain *et al.*, 2022).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik ingin mengetahui pengaruh senyawa-senyawa metabolit sekunder dari daun Asam Jawa yang dianggap memiliki kandungan antioksidan yang tinggi sehingga dipercaya dapat menangkal radikal bebas dalam tubuh dan tidak menutup kemungkinan dapat menstabilkan enzim katalase pada mencit yang dipapar asap rokok

## METODE PENELITIAN

Berdasarkan komisi etik nomor 4452/EC/KEP-UNMAL/VII/2024. penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran dan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *Post Test Only Control Group Design* menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit

berumur 1-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram.

#### Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain neraca analitik, Spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, oven, *rotary evaporator*, peralatan gelas, desikator, bejana maserasi, botol semprot, mikropipet, *blood tube*, sonde oral, *blender*, *vortex*, kandang hewan uji, *sentrifuge shaker*, *smoking chamber* berukuran 38,5x28,5x22,5 cm, spuit 3 ml, dan pipet.

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun Asam Jawa, 1 Liter etanol 96%, rokok gudang garam, Buffer fosfat salin (PBS) PH 7,2, 5 % larutan FeCl<sub>3</sub>, Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, vitamin E, serbuk Mg, larutan Asam klorida 2 N, EDTA, Asam klorida pekat, Asam sulfat pekat, CMC- Na 5 %, alumunium foil, pereaksi Mayer, dan aquadest.

#### Preparasi Sampel

Daun Asam Jawa yang didapatkan di jalan Randu kecamatan kemiling. Sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah daun Asam Jawa yang berwarna hijau tua dan masih segar. Daun kemudian dijemur ditempat yang tidak terkena sinar matahari yaitu dengan cara diangin-anginkan didepan teras rumah hingga kering.

#### Pembuatan dan pengujian ekstrak daun Asam Jawa

Ekstraksi daun Asam Jawa dilakukan dengan metode maserasi yaitu dengan cara merendam 750 gram simplisia selama 5 hari menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 L. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan ekstrak kental dilakukan pengovenan pada suhu 40°C agar didapatkan bentuk pasta. Rendemen ekstrak dihitung dengan cara menimbang bobot cawan dan ekstrak yang didapat dengan rumus:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

Selanjutnya dilakukan pengujian ekstrak berupa skrinning fitokimia untuk identifikasi metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, steroid dan fenolik.

#### Perhitungan Dosis Ekstrak

Rumus menghitung dosis ekstrak daun Asam Jawa yang diberikan pada mencit adalah sebagai berikut :

$$\frac{\text{BB Mencit (gram)}}{100} \times \text{dosis yang ditentukan}$$

#### Pembuatan Suspensi Daun Asam Jawa

Ekstrak daun Asam Jawa ditimbang sesuai dengan dosis 150, 200, dan 250 mg/25 gBB yang telah ditentukan kemudian masing- masing disuspensikan

menggunakan CMC-Na 0,5 % sampai volume 10 mL (Sapkota *et al*, 2022).

#### Pemilihan Hewan Uji dan Pemaparan Asap Rokok

Hewan coba yang digunakan yaitu mencit jantan (*Mus musculus*). Jumlah yang digunakan adalah 24 ekor mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing kelompoknya terdiri dari 4 ekor. Waktu yang dilakukan untuk melakukan pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang setiap pagi yaitu pukul 08.00 WIB dan pemaparan dilakukan selama 15 menit.

Pemaparan asap rokok pada mencit dilakukan secara akut sampai dengan 14 hari. Rokok dibakar dan dikeluarkan asapnya dengan bantuan pompa udara (air pump) hasil modifikasi dengan spuit 20 cc dan selang karet 10 cm dimasukkan kedalam *smooking chamber*. Asap rokok dihembuskan berulang kali hingga rokok habis terbakar.

#### Pembuatan pelarut PBS

Pelarut yang digunakan adalah larutan Phosphate Buffer Saline (PBS) 0,05 M dengan PH 7.4 dengan cara dilakukan penimbangan bahan sebanyak 5.4376 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ditambah dengan 2.6469 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dan 2.250 g NaCl, kemudian dilarutkan dengan aquabidest hingga volumenya mencapai 500 mL. Selanjutnya diukur pH larutan dengan pH meter hingga diperoleh pH 7,2.

#### Pengambilan Sampel Darah

Sebelum pengambilan darah mencit dipuaskan terlebih dahulu selama 1 hari (24 jam). Hewan uji diambil darahnya melalui sinus orbitalis sebanyak 3 ml menggunakan hematokrit. Selanjutnya, darah tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung darah yang berisi EDTA. Darah disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm dengan suhu 4 °C selama 10 menit untuk memisahkan platelet dan supernatan. Setelah itu, plasma dipisahkan dan disimpan.

#### Pengukuran Kadar Katalase

Pengukuran katalase dilakukan dengan melihat absorbansi penguraian H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada blanko dan sampel setiap menit selama 10 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan meneteskan 975 µl larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan pengenceran optimal 1:4000 ke dalam kuvet dengan 25 µl PBS 0,05 M pH 7,2 untuk blanko dan 975 µl larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan 25 µl homogenate untuk sampel.

Selanjutnya dilakukan homogenisasi dengan pengocokan manual dan diukur serapannya pada panjang gelombang 280 nm. Kemudian dihitung kecepatan reaksi setiap menit sehingga didapatkan waktu terbaik penguraian H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh sampel (Siregar *et al.*, 2023).

Langkah selanjutnya adalah menentukan kurva standar protein dengan cara mengukur serapan larutan 50 mg BSA dengan aquadest 1:1 yang kemudian diencerkan dengan perbandingan 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, dan 1,0 pada panjang gelombang 280 nm. Kemudian menentukan konsentrasi protein pada darah dengan melakukan pengukuran absorbansi darah yang telah diencerkan dengan PBS pada pengenceran optimal 1:100 pada panjang gelombang 280 nm (Siregar *et al.*, 2023). Melakukan perhitungan aktivitas katalase dengan rumus sebagai berikut. Aktivitas Katalase (U/ml) =

$$\frac{\Delta \text{ abs sampel} - \Delta \text{ abs blanko} / \text{ menit}}{\text{mola H}_2\text{O}_2 \times \text{ vol sampel yang diukur}} \times \text{Faktor pengenceran}$$

Aktivitas spesifik katalase (U/mg) :

$$\frac{\text{aktivitas katalase } \frac{\text{U}}{\text{ml}}}{\text{kadar protein dalam sampel } \frac{\text{mg}}{\text{ml}}}$$

## Analisis Data

Data dilakukan uji normalitas menggunakan metode *Shaphiro-Wilk* yang digunakan untuk menentukan apakah data terdistribusi normal atau tidak. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan metode *Levene's test* untuk mengetahui homogen atau tidaknya varian yang ada pada populasi.

Jika data terdistribusi normal dan variasi datanya homogen maka dapat dilakukan uji lanjutan metode parametrik yaitu *One Way Anova* dilanjutkan dengan *post hoc Test* Duncan uji statistik pada derajat 95 % ( $p < 0,05$ ) untuk melihat lebih lanjut apakah antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi Daun Asam Jawa

Serbuk simplisia daun Asam Jawa sebanyak 750 gram dengan pelarut etanol 96% menghasilkan ekstrak daun Asam Jawa dengan berat 78,78 gram dengan persen rendemen 10,50 %.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Asam Jawa

Pelarut	Bobot Simplisia (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen %
Etanol 96%	750 gram	78,78 gram	10,50%

Berdasarkan Tabel 1 diatas, hasil ekstraksi daun Asam Jawa menggunakan pelarut 96% didapatkan rendemen yang cukup besar yakni 10,50%. Hasil tersebut menandakan bahwa zat yang tersari dari simplisia yang diekstraksi cukup banyak.

### Hasil Uji Skrinning Fitokimia Daun Asam Jawa

Hasil uji skrinning fitokimia yang dilakukan pada daun Asam Jawa bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder apa saja yang terkandung di dalam ekstrak etanol 96% daun Asam Jawa. Hasil uji fitokimia daun Asam Jawa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Skrinning Fitokimia

No.	Senyawa Metabolit	Hasil Pengamatan	Keterangan
1	Alkaloid	Larutan berwarna kuning dan memiliki endapan coklat	+
2	Flavonoid	Larutan berwarna kuning	+
3	Saponin	Terbentuknya busa	+
4	Tanin	Larutan berwarna hijau dan memiliki endapan	+
5	Steroid	Larutan berwarna kuning kehijauan	+
6	Fenolik	Larutan berwarna hijau kehitaman	+
7	Terpenoid	Larutan berwarna kuning kehijauan	-

**Keterangan :** (+) Positif terdapat senyawa metabolit sekunder, (-) Negatif terdapat senyawa metabolit sekunder

Pada hasil uji fitokimia daun Asam Jawa dilihat dari keterangannya menunjukkan hasil yang positif terhadap flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan fenolik, namun didapatkan hasil negatif terhadap terpenoid. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan (Husain *et al.*, 2022 ; Tunny *et al.*, 2020) bahwa daun asam jawa terpenoid, mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, steroid/dan

juga fenolik.

### Penentuan Kadar Standar Protein

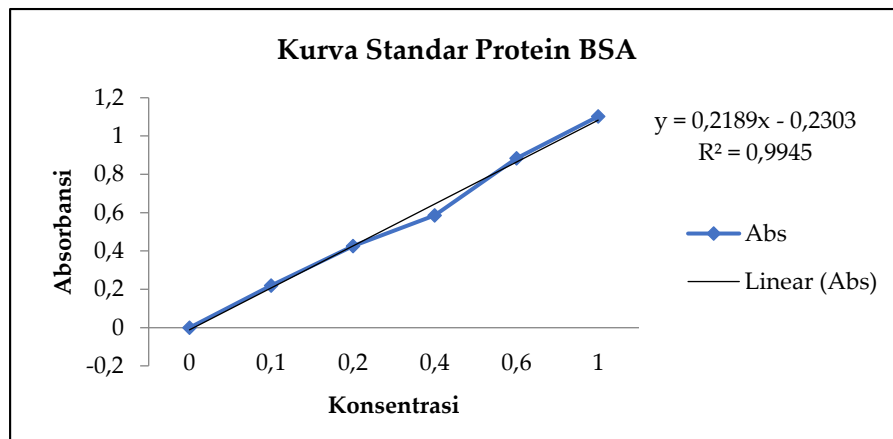
Kurva standar protein dibuat dan dicari nilai  $R^2$ -nya. Nilai  $R^2$  atau koefisien determinasi merupakan angka yang nilainya berkisar dari 0 sampai 1 yang menunjukkan seberapa dekat nilai perkiraan untuk analisis regresi yang mewakili data sebenarnya. Dari hasil kurva standar protein

diperoleh nilai  $R^2$  sama dengan atau mendekati satu. Dari hasil kurva standar protein diperoleh nilai  $R^2$  sebesar 0,9945 untuk digunakan dalam perhitungan

kadar protein katalase darah. Hasil pengukuran absorbansi BSA dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Absorbansi BSA berbagai konsentrasi

No.	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi ( $\lambda$ )
1	Blanko	0	0
2	Standar 1	0,1	0,219
3	Standar 2	0,2	0,426
4	Standar 3	0,4	0,585
5	Standar 4	0,6	0,883
6	Standar 5	1,0	1,102



Gambar 1. Gambar Kurva Standar BSA

#### Penentuan Konsentrasi Katalase Darah

Untuk menentukan konsentrasi katalase pada darah, dilakukan pengukuran absorbansi homogenat yang telah diencerkan dengan PBS pada perbandingan 1:100 pada panjang gelombang 280 nm kemudian hasil pengukuran dicatat dalam tabel.

Konsentrasi katalase (mg/mL) darah kemudian dihitung dengan menggunakan rumus yang didapat dari kurva standar katalase. Hasil pengukuran dan penentuan konsentrasi katalase darah dapat dilihat pada Tabel 4.

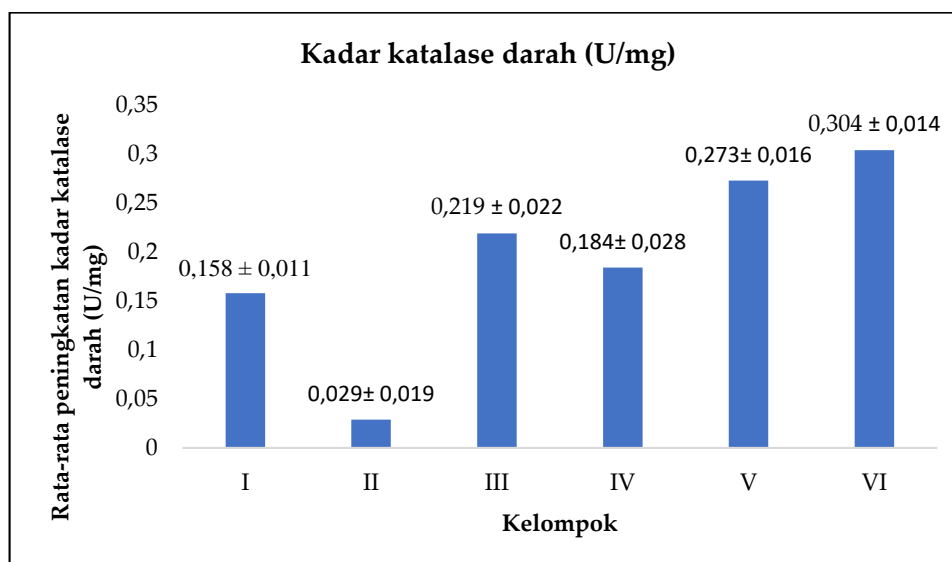
Tabel 4. Hasil Pengukuran Aktivitas Spesifik Katalase (U/mg)

No.	Kelompok	Aktivitas Spesifik Katalase				U/mg rata-rata $\pm$ SD
		1	2	3	4	
1	I	0,143	0,160	0,160	0,169	0,158 $\pm$ 0,011*
2	II	0,013	0,014	0,039	0,051	0,029 $\pm$ 0,019**
3	III	0,194	0,209	0,233	0,241	0,219 $\pm$ 0,022*
4	IV	0,148	0,177	0,204	0,208	0,184 $\pm$ 0,028*
5	V	0,254	0,267	0,278	0,292	0,273 $\pm$ 0,016*
6	VI	0,286	0,298	0,311	0,319	0,304 $\pm$ 0,014*

**Keterangan :** (Kelompok I) perlakuan normal (Pakan standar), (Kelompok II) perlakuan negatif (paparan asap rokok), (Kelompok III) perlakuan positif (Vitamin E 0,26 mg/25 gBB), (Kelompok IV) Ekstrak dosis 150 mg/25 gBB, (Kelompok V) Ekstrak dosis 200 mg/25 gBB, (Kelompok VI) Ekstrak dosis 250 mg/25 gBB

Hasil pengukuran kadar katalase darah pada tabel 5. menunjukkan rata-rata kadar katalase darah paling tinggi terdapat pada kelompok VI sebesar 0,304 U/mg, dan pada kelompok II sebesar 0,273 U/mg. Rata-rata kadar katalase darah kelompok III sebesar 0,220 U/mg, kelompok IV sebesar 0,184

U/mg, kelompok I sebesar 0,158 U/mg dan rata-rata kadar katalase darah paling rendah ada pada kelompok II yaitu sebesar 0,029 U/mg. Berikut dapat dilihat grafik kadar katalase darah mencit pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Kadar Katalase Darah

Pada Gambar 2 Grafik kadar katalase menunjukkan adanya perbedaan bermakna dari hasil rata-rata pada pengukuran kadar katalase darah antar semua kelompok yang sudah diperoleh. Pada kelompok I memperoleh kadar katalase darah yaitu ( $0,158 \pm 0,011$ ) berbeda dengan kadar katalase darah pada kelompok II memperoleh kadar katalase darah yang sangat rendah yaitu ( $0,029 \pm 0,019$ ). Kemudian pada kelompok III memperoleh hasil kadar katalase darah yaitu ( $0,220 \pm 0,022$ ), dilanjut pada kelompok IV dengan perlakuan dosis 150 mg/25 gBB dari ekstrak daun Asam Jawa memperoleh hasil kadar katalase yaitu ( $0,184 \pm 0,028$ ). Pada kelompok V dengan perlakuan dosis daun Asam Jawa 200 mg/25 gBB memperoleh hasil kadar katalase yaitu ( $0,272 \pm 0,016$ ). Terakhir pada kelompok VI dengan perlakuan dosis 250 mg/25 gbb memperoleh hasil kadar katalase yaitu ( $0,303 \pm 0,014$ ). Dilihat dari rata-rata kadar katalase darah pada semua kelompok yang mengalami peningkatan kadar katalase darah yang paling efektif adalah kelompok VI dengan dosis 250 mg/25 gBB dengan nilai rata-rata yaitu ( $0,303 \pm 0,014$ ).

Hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada kelompok perlakuan dengan pemberian daun Asam Jawa terjadi peningkatan kadar katalase darah pada dosis 200 mg/25gBB dan dosis yang paling optimal yaitu 250 mg/25gBB. Hal ini memiliki arti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Asam Jawa maka akan semakin tinggi pula antioksidan yang ada untuk mencegah terjadinya stress oksidatif.

Penelitian sebelumnya oleh Tunny *et al.*, 2020 yang digunakan ekstrak daun asam jawa variasi dosis 150 mg/kg berat badan/hari; 200 mg/kg berat badan/hari dan 250 mg/kg berat badan/hari. Hasil penelitian tersebut mendukung pernyataan bahwa semakin tinggi dosis konsentrasi daun Asam Jawa

maka semakin tinggi pula antioksidan yang dimilikinya (Tunny *et al.*, 2020).

#### Hasil uji Analisis Peningkatan Kadar Katalase Darah

Hasil analisis statistik pada penelitian dengan menguji normalitas terlebih dahulu untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak dengan *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan hasil signifikasi yaitu  $P > 0,05$ . Selanjutnya hasil pengujian homogenitas menunjukkan bahwa data homogen sebab memiliki nilai signifikasi yaitu  $p > 0,05$  yaitu sebesar 0,370.

Kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* dengan hasil uji menunjukkan bahwa nilai signifikasi ( $P = 0,01$ ) sehingga dinyatakan perbedaan signifikan karena ( $P < 0,05$ ), maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima artinya ada pengaruh daun Asam Jawa terhadap peningkatan kadar katalase darah mencit yang dipapar asap rokok. Kemudian dilanjutkan uji lanjut Duncan untuk melihat perbedaan atau kesamaan terhadap peningkatan kadar katalase darah tiap kelompok.

Uji analisis *post hoc* Duncan digunakan untuk melihat perbedaan atau kesamaan terhadap peningkatan kadar katalase darah tiap kelompok. Berikut hasil Analisis Duncan dapat dilihat pada Tabel 5.

Pada hasil uji analisis *post hoc* Duncan kadar peningkatan kadar katalase darah mencit terdapat perbedaan bermakna antara kelompok I dengan kelompok II, III, V, dan VI ( $p < 0,05$ ). Tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok IV ( $p > 0,05$ ). Pada kelompok II terdapat perbedaan bermakna dengan semua kelompok ( $p < 0,05$ ).

Pada kelompok III dengan kelompok I, II, V dan VI terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) dan tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok

IV ( $p>0,05$ ). Pada kelompok IV terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok II,V dan VI ( $p<0,05$ ) dan tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok I dan III ( $p>0,05$ ). Hasil analisis ini menunjukkan bahwa perlakuan yang berbeda memiliki dampak yang signifikan terhadap kadar katalase darah mencit. Perlakuan pada kelompok II terjadi penurunan kadar katalase dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Pada kelompok V terdapat perbedaan bermakna pada kelompok I,II,III, dan IV ( $p<0,05$ ) dan tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok VI ( $p>0,05$ ). Pada kelompok VI terdapat perbedaan

bermakna dengan kelompok I,II,III, dan IV ( $p<0,05$ ). Tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok V ( $p>0,05$ ). Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa paparan asap rokok selama 14 hari terbukti dapat menurunkan kadar katalase darah sedangkan pemberian vitamin e dan daun Asam Jawa mampu meningkatkan kadar katalase darah yang mengalami stress oksidatif akibat paparan asap rokok, tetapi dosis yang paling efektif dalam meningkatkan kadar katalase darah yang dipapar asap rokok didapatkan pada kelompok VI dengan dosis 250 mg/25 gBB).

Tabel 5. Hasil Analisis *Post Hoc* Duncan

No.	Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
1	Kelompok I	4	,15800				
2	Kelompok II	4		,02925			
3	Kelompok III	4		,21925			
4	Kelompok IV	4			,18425		
5	Kelompok V	4				,27275	
6	Kelompok VI	4					,30350

**Keterangan :** (Kelompok I) perlakuan normal (Pakan standar), (Kelompok II) perlakuan negatif (paparan asap rokok), (Kelompok III) perlakuan positif (Vitamin E 0,26 mg/25 gBB), (Kelompok IV) Ekstrak dosis 150 mg/25 gBB, (Kelompok V) Ekstrak dosis 200 mg/25 gBB, (Kelompok VI) Ekstrak dosis 250 mg/25 gBB.

Dari hasil analisis ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok berdampak negatif pada kadar katalase darah. Namun, pemberian vitamin E dan daun Asam Jawa dapat meningkatkan kadar katalase darah yang mengalami penurunan akibat stres oksidatif dari paparan asap rokok. Dosis paling efektif untuk meningkatkan kadar katalase darah ditemukan pada kelompok VI dengan dosis 250 mg/25 gBB.

Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa paparan asap rokok menyebabkan penurunan kadar katalase darah pada kelompok II perlakuan negatif yang menunjukkan nilai penurunan kadar katalase darah yang paling rendah dibanding dengan kelompok lainnya setelah perlakuan. Hal tersebut dapat terjadi karena asap rokok mengandung berbagai zat beracun dan zat-zat pro oksidan yang dapat menghasilkan ROS. Pada saat radikal bebas meningkat melebihi kemampuan endogen maka terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara radikal bebas (pro-oksidan) yang berlebihan atau dapat terjadi karena kurangnya antioksidan.

Penurunan kadar enzim katalase disebabkan karena kerusakan sel dan penghambatan yang terjadi secara bermakna pada biosintesis di hati dan menyebabkan katalase berdifusi ke dalam darah. Hal ini dapat terjadi karena dalam keadaan stress, aktivitas katalase berkurang dikarenakan radikal

bebas menyerang gugus thiol yang terdapat pada kompleks protein yang merupakan komponen enzim katalase sehingga terjadi kerusakan. Target radikal bebas merusak komponen senyawa protein, karbohidrat dan lipid (Agustin & Lisdiana, 2021).

Hasil penelitian tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Felix *et al.*, 2023) bahwa pada kondisi stress oksidatif, terjadi peningkatan kadar ROS yang melebihi kemampuan mekanisme pertahanan endogen sehingga terjadi ketidakstabilan oksidatif dan radikal bebas mengoksidasi lipid dan merusak jaringan yang ada pada membran sel.

Biomarker dari stress oksidatif ditandai dengan penurunan kadar enzim katalase (CAT) yang dihasilkan dari peroksidasi lipid dalam sel yang berlebihan. Selain itu, Temuan ini sejalan dengan (Prayitno *et al.*, 2015) yang mana dalam penelitiannya menyatakan bahwa paparan asap rokok selama 14 hari menyebabkan penurunan enzim lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok normal dan kelompok perlakuan dengan ekstrak daun sirih merah dan vitamin E meskipun tidak signifikan.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada kelompok perlakuan dengan pemberian daun Asam Jawa terjadi peningkatan kadar katalase darah pada dosis 200 mg/25 gBB dan dosis yang paling optimal yaitu 250 mg/25 gBB. Hal ini memiliki arti bahwa semakin tinggi konsentrasi

ekstrak daun Asam Jawa maka akan semakin tinggi pula antioksidan yang ada untuk mencegah terjadinya stress oksidatif. Penelitian sebelumnya menyetujui bahwa semakin tinggi dosis konsentrasi daun Asam Jawa maka semakin tinggi pula antioksidan yang dimilikinya (Tunny *et al.*, 2020).

Selain itu, daun Asam Jawa memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, fenolik dan steroid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Daun Asam Jawa memiliki kandungan antioksidan yang tinggi karena memiliki kemampuan untuk mengatasi kerusakan oksidatif dan menangkal radikal bebas dalam tubuh sehingga dapat meningkatkan kadar katalase darah mencit yang dipapar asap rokok dengan cara menghambat kerja protease sehingga darah akan mengalami perbaikan dari adanya peradangan akibat penurunan katalase yang disebabkan oleh paparan asap rokok dan terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis kadar enzim katalase.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak etanol 96% daun Asam Jawa terhadap kadar katalase darah mencit yang dipapar asap rokok selama 14 hari dengan variasi dosis pada kelompok IV, V dan VI (150, 200 dan 250 mg/25 gBB). Dari ketiga kelompok, dosis yang paling efektif dalam meningkatkan kadar katalase darah mencit dengan ekstrak daun Asam Jawa didapat pada Kelompok VI yaitu dosis 250 mg/25g BB dibandingkan dengan kelompok IV dan V.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, M. P., & Lisdiana, L. (2021). Pengaruh Paparan Rokok Elektrik terhadap kadar GPx dan Catalase pada darah Tikus. *Life Science*, 10(1), 65–75. <https://doi.org/10.15294/lifesci.v10i1.47174>
- Felix, J., Suyono, T., & Chiuman, L. (2023). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Belalai Gajah Terhadap Kadar Malondialdehid Dan Superoksida Dismutase Pada Tikus Dengan Aktivitas Tinggi. *Lantanida Journal*, 11(2), 147. <https://doi.org/10.22373/lj.v11i2.19116>
- Husain, P., Risfianty, D. K., Ihwan, K., Atika, B. N. D., Dewi, I. R., & Ihsan, M. S. (2022). Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica L.*). *Jurnal Inovasi Pendidikan Dan Sains*, 3(2), 78–82. <https://doi.org/10.51673/jips.v3i2.1068>
- Janah, M., & Martini, S. (2017). Hubungan Antara Paparan Asap Rokok Dengan Kejadian Prehypertensi Relationship Between Secondhand Smoke And Prehypertension. *Jurnal Manajemen Kesehatan Yayasan RS.Dr. Soetomo*, 3(2), 131. <https://doi.org/10.29241/jmk.v3i1.75>
- Kunci, S. A., Safyudin, S., Arifin, M., & Oktalisa, W. (2015). Kadar Superoksida Dismutase Mahasiswa Perokok Di Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Sriwijaya. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 23(2), 76–82.
- Nurhidayah, I., Christijanti, W., Lisdiana, L., & Marianti, A. (2022). Efek Ekstrak Kulit Pisang Kepok Terhadap Kadar SOD Paru Tikus Yang Dipapar Asap Rokok. *Seminar Nasional Biologi X FMIPA Universitas Negeri Semarang*, 284–288.
- Prayitno, S. A., Kusnadi, J., & Murtini, E. S. (2015). Pengaruh Ekstrak Etanol 90% Daun Sirih Merah terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Superoksida Dismutase (SOD) Mencit Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Journal of Chemistry*, November, 1–9.
- Rita, R. S., Yerizel, E., Asbiran, N., & Kadri, H. (2015). Pengaruh Ekstrak Mengkudu Terhadap Kadar Malondialdehid Darah dan Aktivitas Katalase Tikus DM yang Diinduksi Alokasan. *Majalah Kedokteran Andalas*, 33(1), 54–64.
- Siregar, N., Febriani, H., & Syukriah, S. (2023). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica L.*) terhadap Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) yang Diinduksi Minyak Jelantah. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(2), 90–99
- Tarnajaya, K., Pangkahila, A., Pangkahila, W., & Siswanto, F. M. (2018). Pemberian Ekstrak Daun Cincau (*Mesona palustris BL*) Meningkatkan Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Biomedik (JBM)*, 10(1), 9–15.
- Tirtosastro, S., Murdiyati, D. A. S., Penelitian, B., Tembakau, T., Serat, D., Raya, J., Km, K., & Pos, K. (2010). *Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok*. 2, 33–43.
- Tunny, R., Mahulauw, M. A. H., & Darmanta, K. (2020). Identifikasi kandungan senyawa fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica L.*) Kecamatan Kairatu Kabupaten Seram Bagian Barat. *2-TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 10(1), 1–5.