

KK
KKA
THD. 33/11
Sus
P

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L.*) TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHID PLASMA DAN AKTIVITAS SUPEROKSID DISMUTASE
ERITROSIT *Rattus norvegicus* AKIBAT LATIHAN OLAHRAGA



Yayuk Susilawati
NIM. 090515544 M



PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007/2008

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L.*) TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHID PLASMA DAN AKTIVITAS SUPEROKSID DISMUTASE
ERITROSIT *Rattus norvegicus* AKIBAT LATIHAN OLAHRAGA**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

**Yayuk Susilawati
NIM. 090515544 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007/2008**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHID PLASMA DAN AKTIVITAS SUPEROKSID DISMUTASE
ERITROSIT *Rattus norvegicus* AKIBAT LATIHAN OLAHRAGA**

TESIS

Untuk memperoleh gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pendidikan Pascasarjana Universitas Airlangga

Yayuk Susilawati

NIM. 090515544 M

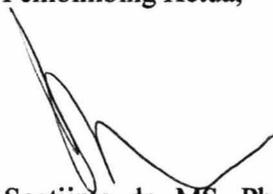
**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
JANUARI 2008**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL, JANUARI 2008

Oleh :

Pembimbing Ketua,



Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D.
NIP. 130 687 606

Pembimbing,



Dr. Suhartati, dr., MS.
NIP. 130 610 119

Mengetahui,

Plt. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar,



Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D.
NIP. 130 541 984

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

Pada tanggal, Januari 2008

PANITIA PENGUJI,

1. Prof. Dr. Harjanto JM., dr., AIF.
2. Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D.
3. Dr. Suhartati, dr., MS.
4. Prof. Dr. Kuntoro, dr., MPH.
5. Dr. Suprpto Ma'at, Apt., MS.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya yang tak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian tesis ini. Tesis ini merupakan tugas akhir sebagai syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Magister (S₂) Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya. Banyak kesulitan dan rintangan yang penulis hadapi, namun dengan ijin Allah SWT dan dengan bimbingan serta bantuan berbagai pihak akhirnya semua kesulitan itu dapat dilewati dan diselesaikan dengan baik. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menghaturkan ucapan terima kasih yang tak terhingga pada berbagai pihak yang telah membantu, membimbing, mendorong dan memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian tesis ini.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya kami sampaikan kepada Prof. Soetjipto, dr., MS., Ph.D. selaku pembimbing ketua, dan Dr. Suhartati, dr., MS. selaku pembimbing kedua sekaligus Ketua Departemen Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang penuh perhatian dan kesabaran telah meluangkan waktu dan tidak henti-hentinya memberi semangat, bimbingan, wejangan, masukan dan saran demi terselesaikannya tesis ini.

Pada kesempatan ini perkenankan kami untuk mengucapkan terima kasih kepada Yth.:

1. Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt., Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Muhammad Amin, dr., Sp.P.(K) dan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. Sri Hajati, SH., MS. yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister ini.
2. Pelaksana tugas Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D. dan Ketua Minat Studi Ilmu Biokimia, Prof. Dr. Indri Safitri, dr., MS., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti program Magister di Program Pendidikan Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
3. Seluruh dosen penguji atas masukan dan saran-sarannya untuk memperbaiki tesis ini.
4. Kepala Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya beserta seluruh staf yang telah memberikan ijin dan bantuan kepada penulis untuk menggunakan sarana dan fasilitas laboratoriumnya kepada penulis selama mengerjakan penelitian.
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan bagian Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu dengan ikhlas memberikan ilmu dan berbagi pengalaman selama studi.
6. Dr. Suprpto Ma'at, Apt., MS., selaku pemilik PT. Tradimun Gresik yang telah memberikan bantuan dan pengajaran metode ekstraksi daun jambu biji yang telah terstandarisasi.

7. Dr. Sudjarwo, Apt., MS. dan Atika, S.Si., M.Kes., yang banyak memberikan masukan dan perbaikan untuk menyempurnakan tesis ini.
8. Orang tua-ku dan saudara-saudaraku, yang telah memberikan bantuan, dorongan dan doa restu sehingga penulis bisa menyelesaikan tesis ini.
9. Kawan-kawanku yang tersayang, Anita Joeliantina, S.Kep.Ns., Putu Ayu Asri Damayanti, dr., Wringing, drh., Nurhidayati, dr., Maruni Wiwin Diarti, S.Si., Erlin Yustin T., SKM., yang telah memberikan dorongan, masukan, kritikan dan bantuan kepada penulis selama menyelesaikan tesis ini.
10. Semua pihak yang turut membantu tetapi tidak bisa disebutkan satu per satu di sini, semoga mendapat limpahan rahmat dan karunia-Nya.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu segala saran, kritikan dan masukan yang membangun akan diterima dengan senang hati. Semoga setitik ilmu yang diperoleh dari tesis ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan peningkatan kesehatan di Indonesia yang tercinta. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya bagi kita semua.

Surabaya, Januari 2008

Penulis

RINGKASAN

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava l.*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID PLASMA DAN AKTIVITAS SUPEROKSID DISMUTASE ERITROSIT *Rattus norvegicus* AKIBAT LATIHAN OLAHRAGA

Malondialdehid (*Malondialdehyde*/MDA) digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat oksidan atau radikal bebas. Teori yang dapat dipakai untuk menjelaskan terjadinya kerusakan sel dan jaringan, adalah teori oksidan terutama radikal bebas. Beberapa peneliti melaporkan bahwa aktivitas olah raga anaerobik yang berat dapat menstimulasi terbentuknya radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species*: ROS), bila jumlah ROS berlebihan dalam tubuh maka akan terjadi ketidakseimbangan jumlah oksidan dan antioksidan yang disebut stress oksidatif. Untuk meredam terjadinya stres oksidatif diperlukan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan. Ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava l.*) diduga berkhasiat sebagai antioksidan eksogen yang potensial dan belum banyak terungkap.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji terhadap kadar MDA plasma dan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) eritrosit pada *Rattus norvegicus* akibat latihan olah raga.

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *The Randomized post test only control group design*. Penelitian ini terdapat empat kelompok (kelompok 1, 2, 3 dan 4). Kelompok 1 adalah kontrol dengan diberikan latihan renang saja tanpa ekstrak daun jambu biji. Kelompok 2, 3 dan 4 diberikan latihan renang dan ekstrak daun jambu biji dengan dosis yang berbeda. Kelompok 2 dosis 2,724 mg/200 g BB tikus, kelompok 3 dosis 5,407 mg/200 g BB tikus dan kelompok 4 dosis 10,813 mg/200 g BB tikus. Ekstrak daun jambu biji diberikan 3 jam sebelum latihan renang. Pada setiap subyek dari kelompok dilakukan *follow up* selama

6 hari. Pada keempat kelompok dilakukan pemeriksaan kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit pada hari terakhir (ke-enam).

Dari hasil penelitian ini didapat data bahwa kadar MDA plasma antara kelompok perlakuan terdapat penurunan secara bermakna ($p = 0,000$ atau $p < 0,05$) pada kelompok 2, 3, dan 4 ($P_1 = 2,368 \pm 0,343$, $P_2 = 3,699 \pm 0,186$, dan $P_3 = 3,165 \pm 0,527$) dibandingkan kelompok kontrol dengan latihan renang saja ($K = 22,011 \pm 11,707$). Data ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji selama 6 hari menunjukkan efek pencegahan terhadap peningkatan kadar MDA plasma akibat latihan olahraga.

Sedangkan aktivitas enzim SOD eritrosit mengalami peningkatan secara bermakna pada kelompok 3 dan 4 ($P_2 = 28,905 \pm 0,777$ dan $P_3 = 28,667 \pm 0,817$) dibandingkan kelompok kontrol (K) dengan latihan renang saja ($26,080 \pm 2,387$). Kelompok 3 dosis $5,407 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$ tikus $p = 0,005$ dan kelompok 4 dosis $10,813 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$ tikus $p = 0,008$ atau $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji dengan dosis $5,407 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$ tikus dan dosis $10,813 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$ tikus selama 6 hari memberikan efek pencegahan terhadap penurunan aktivitas SOD eritrosit akibat latihan olahraga.

SUMMARY

EFFECT OF THE ADMINISTRATION OF *Psidium guajava* L. LEAVES EXTRACT ON PLASMA MALONDIALDEHYDE LEVEL AND ERYTHROCYTE SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY OF *Rattus norvegicus* RESULTING FROM EXERCISE

Malondialdehyde (MDA) is used as indicator of damages resulting from oxidant or free radicals. Theory used to explain the occurrence of cellular and tissue damages is the oxidant theory, particularly the free radicals. Some authors reported that heavy anaerobic exercise may stimulate the formation of free radicals or reactive oxygen species (ROS). If the amount of ROS is excessive in the body, there will be an imbalanced amount of oxidant and antioxidant, a condition called as oxidative stress. Antioxidant is needed to attenuate the occurrence of oxidative stress. Antioxidant is a compound with capability to attenuate the negative effects of oxidant. The extract of *Psidium guajava* L. (guava) leaves was expected to have potential as exogenous antioxidant, and this potential has not been commonly disclosed. The objective of this study was to find the effectiveness of the administration of *Psidium guajava* L. leaves extract on plasma MDA level and erythrocyte superoxide dismutase (SOD) activity in *Rattus norvegicus* resulting from exercise.

This was a laboratory experimental study using the randomized post test only control group design. There were four groups in this study (groups 1, 2, 3 and 4). Group 1 was control, receiving only swimming exercise, without the extract. Group 2, 3, and 4 received swimming exercise and the extract of *Psidium guajava* L. leaves in different doses. The doses for group 2 was dose 2.724 mg/200 g BW rats, group 3 dose 5.407 mg/200 g BW rats and group 4 dose 10.813 mg/200 g BW rats. The extract was given 3 hours before swimming exercise. Each subject in those groups was followed-up for 6 days. The groups were subjected to plasma MDA level and erythrocyte SOD activity examination on the last day (day 6).

The results of this study revealed that plasma MDA level in control group showed significant reduction ($p = 0.000$ or $p < 0.05$) in groups 2, 3, and 4 ($P_1 = 2,368 \pm 0,343$, $P_2 = 3,699 \pm 0,186$, and $P_3 = 3,165 \pm 0,527$) compared to control group ($C = 22,011 \pm 11,707$). These data suggest that the administration of *Psidium guajava l.* leaves extract for 6 days provide inhibitory effect against the increase of plasma MDA level resulting from exercise.

Erythrocyte SOD activity showed significant increase in groups 3 and 4 ($P_2 = 28.905 \pm 0.777$ and $P_3 = 28.667 \pm 0.817$) compared to control group (26.080 ± 2.387). Group 3 dose 5.407 mg/200 g BW rats $p = 0.005$ and group 4 dose 10.813 mg/200 g BW rats $p = 0.008$ or $p < 0.05$. These data suggest that the administration of *Psidium guajava l.* leaves extract for 6 days provide inhibitory effect against the reduction of erythrocyte SOD activity resulting from exercise.



DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Pengesahan	iii
Panitia Penguji	iv
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	6
1.4.1. Manfaat Teoritis	6
1.4.2. Manfaat Praktis	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Daun Jambu Biji (<i>Psidium folium</i>)	7
2.1.1. Taksonomi Tanaman Jambu Biji	8
2.1.2. Morfologi Tanaman Jambu Biji	9
2.1.2.1. Daun jambu biji.....	9

2.1.2.2. Batang tanaman jambu biji	10
2.1.2.3. Bunga tanaman jambu biji.....	11
2.1.2.4. Buah jambu biji	12
2.1.2.5. Akar tanaman jambu biji	13
2.1.3. Kandungan Tanaman Jambu Biji	13
2.1.3.1. Daun jambu biji.....	14
2.1.3.2. Buah jambu biji.....	15
2.1.3.3. Biji buah jambu biji	16
2.1.3.4. Kulit kayu tanaman jambu biji	16
2.1.3.5. Akar tanaman jambu biji	16
2.1.3.6. Ranting tanaman jambu biji	16
2.1.4. Manfaat Tanaman Jambu Biji	16
2.1.5. Penggunaan Daun Jambu Biji	18
2.1.6. Metabolisme Flavonoid	20
2.1.7. Tinjauan Tentang Senyawa Polifenol	20
2.2. Latihan Olahraga	24
2.2.1. Sistem ATP-KP (Sistem fosfagen)	24
2.2.2. Glikolisis Anaerobik (Sistem asam laktat)	25
2.3. Oksidan dan Radikal Bebas	29
2.4. <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	31
2.4.1. Superoksida ($O_2^{\bullet -}$)	32
2.4.2. Hidroksil ($\bullet OH$)	33
2.4.3. Peroksil ($ROO\bullet$)	34
2.4.4. Hidrogen Peroksida (H_2O_2)	34
2.4.5. Asam Hipoklorit ($HOCl$)	35
2.4.6. Singlet Oksigen (1O_2)	35

2.5. Antioksidan	35
2.5.1. Antioksidan Pencegah	36
2.5.2. Antioksidan Pemutus Rantai	37
2.6. Stress Oksidatif	38
2.7. Hubungan Antara Latihan Dan Peningkatan ROS	40
2.7.1. Rantai Transport Elektron Di Mitokondria	41
2.7.2. Xantin Oksidase	41
2.7.3. Respon Inflamasi Sel Polimorfonuklear (PMN)	42
2.7.4. Sistem Sitokrom P ₄₅₀	43
2.7.5. Katekolamin	43
2.7.6. Asam Laktat	45
2.8. Eritrosit (Sel darah merah)	45
2.9. Enzim Superoksida Dismutase (SOD)	48
2.10. Malondialdehid (MDA)	49

BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian	51
3.2. Hipotesis Penelitian	53

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Dan Rancangan Penelitian	54
4.2. Sampel, Besar Sampel Dan Teknik Pengambilan Sampel	55
4.3. Variabel Penelitian	56
4.3.1. Klasifikasi Variabel	56
4.3.2. Definisi Operasional Variabel	56
4.4. Bahan Dan Alat Penelitian	59
4.4.1. Bahan Penelitian	59

4.4.1.1. Hewan uji	59
4.4.1.2. Ekstrak daun jambu biji	59
4.4.1.3. Bahan untuk pemeriksaan	59
4.4.2. Alat Penelitian	60
4.4.2.1. Alat untuk pemberian CMC Na 0,5 % dan ekstrak daun jambu biji	60
4.4.2.2. Alat penimbang BB hewan coba	60
4.4.2.3. Alat untuk preparasi sediaan eritrosit	60
4.4.2.4. Alat untuk pemeriksaan kadar MDA dan aktivitas SOD	60
4.5. Prosedur Penelitian	60
4.5.1. Aklimatisasi	60
4.5.2. Perlakuan Hewan Coba	61
4.5.3. Pengambilan Sampel	61
4.6. Lokasi Dan Jadwal Penelitian	62
4.6.1. Lokasi Penelitian	62
4.6.2. Jadwal Penelitian	62
4.7. Analisis Data	62
4.8. Kerangka Operasional	63

BAB V. ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1. Hasil Uji Statistik	64
5.2. Hasil Uji Normalitas	67
5.3. Hasil Uji Homogenitas	68
5.4. Hasil Uji F	68
5.5. Hasil Uji Wilks' Lambda.....	69
5.6. Hasil Uji LSD	70

BAB VI. PEMBAHASAN	
6.1. Analisis Kadar MDA Plasma	74
6.2. Analisis Aktivitas SOD Eritrosit	77
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1. Kesimpulan	81
7.2. Saran	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN	88

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1.3.2. Kandungan gizi jambu biji	15
Tabel 2.4. <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	31
Tabel 4.6.2. Jadwal Penelitian	62
Tabel 5.1. Rerata dan simpangan baku (standar deviasi) kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit.....	64
Tabel 5.2. Hasil uji normalitas	67
Tabel 5.3. Hasil uji homogenitas	68
Tabel 5.4. Hasil Uji F.....	68
Tabel 5.5. Hasil Uji Wilks' Lambda.....	69
Tabel 5.6. Hasil Uji LSD	70

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1.1. Tanaman jambu biji	9
Gambar 2.1.2.2. Batang tanaman jambu biji	11
Gambar 2.1.2.3. Bunga tanaman jambu biji	12
Gambar 2.1.2.4. Buah jambu biji matang	13
Gambar 2.1.7. Rumus bangun flavonoid dan kuersetin	21
Gambar 2.2.2. Glikolisis anaerobik	25
Gambar 2.2.2.2. Sistem energi menurut waktu maksimal kerja	27
Gambar 2.7.5.1. Autooksidasi dopamin	44
Gambar. 2.7.5.2. Pembentukan superoksida dari siklus redox	45
Gambar 2.8. Pertahanan antioksidan eritrosit	47
Grafik 5.1a. Rerata kadar MDA plasma pada keempat kelompok	65
Grafik 5.1b. Rerata aktivitas SOD eritrosit pada keempat kelompok	65

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Penentuan Besar Sampel	88
Lampiran 2 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji	90
Lampiran 3 Tabel Konversi Perhitungan Dosis Untuk Beberapa Jenis Hewan Dan Manusia	91
Lampiran 4 Cara Kerja Pemeriksaan Kadar MDA Plasma	92
Lampiran 5 Cara Kerja Pemeriksaan Aktivitas SOD Eritrosit	93
Lampiran 6 Hasil Uji Statistik	94
Foto Dokumentasi.....	101

DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosin Difosfat
AMP	: Adenosin Monofosfat
Anova	: Analisis of varians
A-OH	: Senyawa fenol
AO•	: Radikal fenoksil
Asc-H ₂	: Asam askorbat
Asc• ⁻	: Radikal askorbat
ATP	: Adenosin trifosfat
ATP-KP	: Adenosin trifosfat-kreatinfosfat
BB	: Berat badan
Ca ²⁺	: Kalsium
CMC Na	: Carboxymethyl cellulose natrium
Cu	: Copper
CuZnSOD	: Copper-zinc superoxyde dismutase
Cys-SH	: Sistein
DHAA	: Dehidro-asam askorbat
DHD	: Dehidrogenase
DHMA	: 3,4-Dihydroxymandelic acid
DJB	: Ekstrak daun jambu biji
DNA	: Deoksiribonukleotida
DOPAC	: 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid
e ⁻	: Elektron
EDTA	: Asam etilenediamintetraasetat
FADH ₂	: Flavin adenin dinukleotida
Fe ²⁺	: Ferro
Fe ³⁺	: Ferri
FL-OH	: Flavonoid
FL-O•	: Radikal flavonoid
GPx	: Glutation peroksidase
GSH	: Glutation
GSSG	: Glutation teroksidasi
H ⁺	: Ion hydrogen (proton)
HCl	: Asam klorida
HNE	: 4-Hydroxynonenal
HOO•	: Radikal peroksil
H ₂ O	: Air
H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
HOCl	: Asam hipoklorit
HR _{max}	: Maximum heart rate
HX	: Hipoxantin
K	: Kelompok kontrol
K	: Kreatin

KP	: Kreatinfosfat
L•	: Radikal lemak
LH	: Asam lemak
LO•	: Radikal alkoksil lemak
LOO•	: Radikal peroksil lemak
LOOH	: Peroksida lemak
LSD	: Least significance difference
Manova	: Multiple analysis of varians
MAO	: Monoamine oksidase
MDA	: Malondialdehid
mmol/L	: milimol per liter
MnSOD	: Manganese superoksida dismutase
MPO	: Mieloperoksidase
NaCl	: Natrium klorida
NADPH	: Nikotinamid-adenin dinukleotida fosfat
NBT	: Nitroblue tetrazolium
nm	: nanometer
nmol/ml	: nanomol per mililiter
O ₂	: Oksigen
O ₂ • ⁻	: Radikal superoksida
¹ O ₂	: Singlet oksigen
•OH	: Radikal hidroksil
OR	: Latihan olahraga
P _{1,2,3}	: Kelompok perlakuan 1, 2 dan 3
PMN	: Polimorfonuklear
PUFA	: Polyunsaturated fatty acid
RO•	: Radikal alkoksil
ROO•	: Radikal peroksil
ROS	: Reactive oxygen species
SD	: Standar deviasi
SH	: Sulfhidril
SOD	: Superoksid dismutase
TBA	: Asam tiobarbiturat
TBARS	: Thiobarbituric acid reactive substance
TCA	: Asam trikloroasetat
Toc-H	: Tokoferol
U/μl.	: Unit per mikroliter
VO ₂ max	: Volume oksigen maksimum
X	: Xantin
\bar{X}	: Nilai rata-rata hitung
XO	: Xantin oksidase

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penggunaan tanaman obat yang dikenal sebagai obat tradisional cenderung meningkat, terlebih dengan adanya motto kembali ke alam (*back to nature*) serta adanya krisis berkepanjangan yang mengakibatkan turunnya daya beli masyarakat. Indonesia merupakan negara nomor dua terbesar di dunia setelah Brazil yang memiliki keragaman hayati. Keanekaragaman hayati telah lama diketahui akan membawa manfaat yang besar (Conservation International Indonesia, 2006). Pengobatan dari bahan alam banyak digunakan dalam upaya pencegahan (preventif), penyembuhan (kuratif), pemulihan kesehatan (rehabilitatif) serta peningkatan kesehatan (promotif). Berbagai cara bisa dilakukan dalam rangka memperoleh derajat kesehatan yang optimal, salah satunya dengan memanfaatkan tanaman obat (Katno, Pramono, 2006).

Daun jambu biji (*Psidium folium*) termasuk tanaman *Psidium guajava linn* (*guava*) atau jambu biji, famili *myrtaceae*. Jambu biji sering juga disebut jambu klutuk, jambu siki atau jambu batu. Daun jambu biji secara tradisional telah lama digunakan sebagai obat diare. Baru-baru ini ditemukan bahwa daun jambu biji mengandung senyawa aktif. Dari hasil penelitian ditunjukkan bahwa senyawa fitokimia polifenol merupakan senyawa aktif yang terdapat dalam daun jambu biji yang berfungsi untuk meredam radikal bebas (Lopez *et.al.*, 2003; He *et.al.*, 2004).

Senyawa polifenol dapat menghambat oksidasi lemak atau molekul lain dengan cara menghambat tahap inisiasi dan propagasi dari reaksi oksidasi berantai pada peroksidasi lemak (Karou *et.al.*, 2005; Middleton *et.al.*, 2000). Di antara senyawa polifenol, flavonoid kuersetin diduga memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat (Morand *et.al.*, 1998; Lopez *et.al.* 2003).

Dalam keadaan normal terdapat keseimbangan antara oksidan dan antioksidan, namun keseimbangan ini dapat bergeser ke arah oksidan ketika produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) meningkat. Ketidakseimbangan antara sistem antioksidan dan oksidan intraseluler dalam jangka waktu lama dapat mengakibatkan stress oksidatif. Senyawa oksidan yang berlebihan tersebut dapat merusak tiga komponen utama penyusun sel yaitu, lemak membran sel, protein dan DNA yang mengakibatkan perubahan fungsi seluler dan kerusakan jaringan (Murray *et.al.*, 2003; Schneider, Oliveira, 2004; Ahmed, 2005).

Salah satu aktivitas yang dapat menimbulkan terjadinya stress oksidatif adalah latihan olahraga. Olahraga dengan intensitas yang berat dapat menyebabkan terbentuknya senyawa ROS yang berlebihan (Ji, 1999; Machefer *et.al.*, 2004; Bonilla *et. al.*, 2005). ROS dapat terbentuk melalui fase latihan dan fase pemulihan. Pada fase latihan sumber energinya dominan dari rangkaian proses metabolisme anaerob (tanpa oksigen), dan fase pemulihan sebagai fase pulih asal akan meningkatkan konsumsi oksigen (*reperfusion injury*) sehingga meningkatkan ROS intraseluler. Intensitas latihan yang berat akan meningkatkan ambilan oksigen dalam tubuh, semakin banyak oksigen yang dikonsumsi maka semakin banyak ROS terbentuk (Fox *et.al.*, 1993; Aslan *et. al.*, 1998).

Pembentukan radikal bebas dan peroksida lemak dianggap suatu ciri yang penting dalam kerusakan sel yang disebabkan ROS. Reaksi auto-oksidasi pada lemak membran akan berakhir dengan degradasi peroksida lemak membentuk berbagai produk aldehid yang toksik seperti MDA (Malondialdehid) dengan tiga atau lebih ikatan rangkap dan 4-hydroxynonenal (HNE), produk lain, etana (C_2H_6) dan pentana (C_5H_{10}). MDA muncul dalam darah dan urin, dan dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas (Romero *et.al.*, 1998; Marks *et.al.*, 2000). Kadar MDA dapat diukur dari sampel plasma darah subyek setelah latihan olahraga (Kelle *et.al.*, 1999; Harjanto, 2003).

Sampel eritrosit banyak dilakukan sebagai obyek penelitian, karena relatif lebih mudah memperolehnya. Eritrosit merupakan sel yang rentan terhadap stress oksidatif. Stress oksidatif yang timbul setelah aktivitas olahraga dapat meningkatkan peroksidasi lemak membran sel dan destruksi eritrosit (Bonilla *et.al.*, 2005).

Enzim SOD merupakan salah satu antioksidan enzimatik yang berperan sebagai pertahanan pertama terhadap stress oksidatif dan melindungi eritrosit dari kerusakan akibat stress oksidatif. Eritrosit yang dilengkapi dengan enzim CuZnSOD akan mencegah tertimbunnya senyawa oksidan yang berlebihan dan mencegah reaksi berantai lebih lanjut (Marks *et.al.*, 2000). Aktivitas SOD eritrosit dapat dijadikan sebagai petanda biologis terjadinya stress oksidatif akibat aktivitas olahraga (Harjanto, 2003).

Untuk meredam terjadinya stress oksidatif akibat aktivitas olahraga diperlukan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat

meredam dampak negatif oksidan. Menurut sumbernya antioksidan ada dua yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen termasuk diantaranya enzim dan protein pengikat logam, sedangkan antioksidan eksogen berasal dari makanan (Amin, 1996).

Melihat fenomena di atas, hal yang perlu dicermati, yaitu potensi antioksidan eksogen daun jambu biji dengan kandungan senyawa polifenol terutama flavonoid kuersetin. Salah satu penyebab stress oksidatif adalah latihan olahraga.

Berdasarkan hal tersebut di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi antioksidan daun jambu biji terhadap stress oksidatif akibat aktivitas olahraga. Penelitian daun jambu biji sebagai antioksidan belum banyak dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan pengujian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji terhadap kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit pada *Rattus norvegicus* yang mendapat stressor latihan olahraga dengan beban 9 % dari berat badan tikus, olahraga ini sumber energinya dominan dari metabolisme anaerobik dan efek dari latihan ini terbukti dapat meningkatkan kadar MDA plasma (Hairuddin, 2005; Yunus, 2001). Dosis yang telah diketahui dapat memberikan efek terapi pada manusia adalah 5,31 mg kuersetin per 50 kg BB (Nasiruddin, 2005).

1.2. Rumusan Masalah

- Apakah pemberian ekstrak daun jambu biji dapat menghambat peningkatan kadar MDA plasma yang mendapat perlakuan latihan olahraga pada *Rattus norvegicus*?
- Apakah pemberian ekstrak daun jambu biji dapat menghambat penurunan aktivitas SOD eritrosit yang mendapat perlakuan latihan olahraga pada *Rattus norvegicus*?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan Umum : Mempelajari pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji terhadap stress oksidatif akibat aktivitas latihan olahraga pada *Rattus norvegicus*.

Tujuan Khusus :

- Membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat menghambat peningkatan kadar MDA plasma akibat aktivitas latihan olahraga pada *Rattus norvegicus*.
- Membuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat menghambat penurunan aktivitas SOD pada eritrosit akibat aktivitas latihan olahraga pada *Rattus norvegicus*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis:

Memberikan informasi tentang potensi daun jambu biji sebagai antioksidan dalam aktivitasnya meredam ROS dan menghambat peroksidasi lemak membran akibat stress oksidatif setelah latihan olahraga. Dengan mengetahui perubahan kadar MDA plasma dan perubahan aktivitas enzim antioksidan SOD eritrosit setelah pemberian ekstrak daun jambu biji maka dapat diketahui potensi protektif daun jambu biji sebagai antioksidan.

1.4.2. Manfaat Praktis:

1. Menjadi dasar ilmiah bagi pengembangan dan pemanfaatan daun jambu biji sebagai antioksidan eksogen.
2. Memberikan nilai tambah keragaman hayati untuk kemajuan dan pengembangan ilmu kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun Jambu Biji (*Psidium folium*)

Daun jambu biji merupakan bagian dari tanaman jambu biji. Nama ilmiahnya adalah *Psidium guajava*. *Psidium* berasal dari bahasa Yunani yang berarti delima. Sementara *guajava* berasal dari nama yang diberikan oleh orang spanyol. Tanaman jambu biji dapat tumbuh subur di daerah tropis dan subtropis. Wilayah pusat tanaman ini adalah Jawa, Bali, Sulawesi dan Nusa Tenggara. Jambu biji di Indonesia mempunyai beberapa nama daerah, yaitu, Sumatra: *glima breueh* (Aceh), *galiman* (Batak), *masiambu* (Nias), *biawas*, *jambu biawas*, *jambu biji*, *jambu susu* (Melayu). Kalimantan: *libu*, *nyibu* (Dayak busang). Jawa: *jambu klutuk* (Sunda), *bayawas*, *jambu klutuk*, *jambu krutuk*, *petokal*, *tokal* (Jawa); *jambu bender*, *jambu bigi* (Madura). Nusa Tenggara: *sotong* (Bali); *kejawas*, *kujawas*, *kojabas* (Timor); *kujabas* (Roti). Sulawesi: *Goyawas* (Manado), *dambu* (Gorontalo), *Jambu paratugala* (Makasar). Maluku: *Kayawase*, *kojawase* (Seram); *laine hatu*, *lutu hatu* (Alfur Ambon), *jambu rutuno* (Haruku), *gawaya* (Halmahera/Ternate) (Depkes RI, 1977).

Pembudidayaan jambu biji di Indonesia pada umumnya masih di sekitar halaman rumah atau di ladang sampai ketinggian 1200 m dari permukaan laut sebagai tanaman buah-buahan. Jambu biji juga mempunyai daya adaptasi tinggi, sehingga dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah. Akan tetapi tanaman ini lebih suka hidup di tempat yang terbuka dan mendapat sinar matahari yang penuh (Murniati, 2006). Jambu biji merupakan tanaman perdu bercabang banyak,

tingginya dapat mencapai 3 – 10 m. Umumnya umur tanaman hingga sekitar 30 - 40 tahun. Tanaman yang berasal dari biji relatif berumur lebih panjang dibandingkan hasil cangkokan atau okulasi. Namun tanaman yang berasal dari okulasi memiliki postur lebih pendek (*dwarfing*) dan bercabang lebih banyak sehingga memudahkan perawatan tanaman. Tanaman ini sudah mampu berbuah saat berumur 2 – 3 bulan meskipun ditanam dari biji (Parimin, 2005).

Dalam penggunaan di masyarakat, ekstrak akar, kulit kayu dan daun jambu biji sering dimanfaatkan untuk mengobati berbagai penyakit, diantaranya penyakit saluran cerna, muntah, diare, disentri, luka baru, ulcer, sakit gigi, batuk, luka tenggorokan, radang gusi dan lainnya. Tanaman ini memiliki prospek yang bagus dan patut dikembangkan (Dweck, 2005).

2.1.1. Taksonomi tanaman jambu biji

Jambu biji termasuk famili *myrtaceae*, marga *psidium*. Taksonomi selengkapnya diklasifikasikan sebagai berikut (Parimin, 2005):

Kingdom : *Plantae* (tumbuh-tumbuhan)

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae* (biji berkeping dua)

Ordo : *Myrtales*

Famili : *Myrtaceae*

Genus : *Psidium*

Spesies : *Psidium guajava linn*



Gambar 2.1.1. Tanaman jambu biji (Suara merdeka, 2004)

2.1.2. Morfologi tanaman jambu biji

Jambu biji merupakan tanaman perdu (semak/pohon kecil) yang bercabang banyak, secara alamiah dapat tumbuh setinggi 3 -10 meter. Batang pokoknya bercabang bebas dari bawah ke atas. Ia juga dapat membentuk mahkota, perdu dan sebagainya. Morfologi bagian tanaman jambu biji dapat diuraikan sebagai berikut (Depkes RI, 1977; Mardisiswojo, Rajakmangunsudarso, 1985; Steenis, 1997; Parimin, 2005):

2.1.2.1. Daun jambu biji

Daun jambu biji berbentuk bulat panjang, bulat langsing atau bulat oval, dengan ujung tumpul atau meruncing. Bertangkai pendek, panjang tangkai 0,5 – 1 cm. Panjang helai daun 6 – 14 cm, lebar 3 – 6 cm. Pinggir daun rata agak menggulung ke atas. Permukaan daun yang muda berbulu/berambut keabu-abuan,

sedangkan daun yang tua permukaannya menjadi licin. Kelenjar minyak tampak sebagai bintik-bintik berwarna gelap dan bila daun direndam tampak sebagai bintik-bintik yang tembus cahaya. Ibu tulang daun dan tulang cabang menonjol pada permukaan bawah, bertulang (berpenulangan) menyirip, warna putih kehijauan. Warna daun beragam, hijau muda, hijau tua, merah tua dan hijau berbelang kuning. Tata letak daun saling berhadapan dan tumbuh tunggal. Ada korelasi antara bentuk daun dan bentuk buah. Jika daunnya kecil-kecil, buahnya pun kecil (jambu krikil). Jika bentuknya bulat, buahnya pun bulat. Pohon yang daunnya memanjang dan agak lancip ujungnya, buahnya berbentuk seperti buah *pear*, bagian dekat tangkai buah agak memanjang. Gambar daun jambu biji bisa dilihat pada gambar 2.1.1.

2.1.2.2. Batang tanaman jambu biji

Batang jambu biji mempunyai ciri-ciri khusus, antara lain berkayu keras, liat, tidak mudah patah, kuat dan padat. Kulit batang permukaannya halus, berwarna coklat atau coklat keabu-abuan dan kulit arinya mudah mengelupas. Pada fase tertentu, tanaman mengalami pergantian atau peremajaan kulit.



Gambar 2.1.2.2. Batang tanaman jambu biji (Parimin, 2005)

2.1.2.3. Bunga tanaman jambu biji

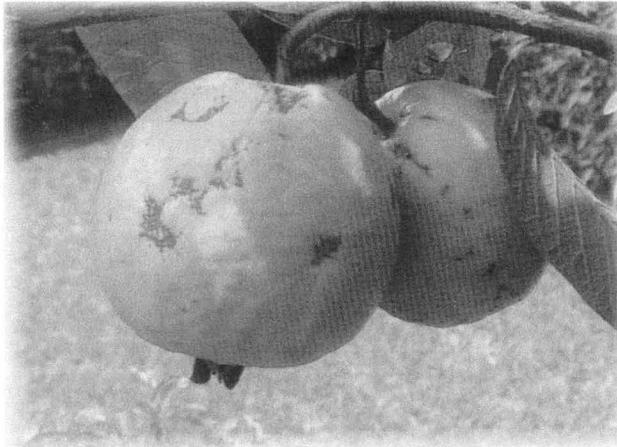
Tanaman jambu biji dapat berbuah dan berbunga sepanjang tahun. Bunga tumbuh di ketiak daun atau pucuk ranting dan bertangkai. Perbungaan terdiri dari 1 – 3 bunga. Panjang gagang perbungaan 2 – 4 cm. Kelopak dan mahkota masing-masing terdiri dari lima helai. Panjang kelopak 7 – 10 mm, tajuk berbentuk bundar telur sungsang, panjang 1,5 – 2 cm. Berkelamin dua, benang sari banyak, berputik satu, tangkai sari berwarna putih. Benang sari pada tonjolan dasar bunga yang berbulu, putih, pipih dan lebar, seperti halnya tangkai putik berwarna serupa mentega. Bakal buah tenggelam, beruang 4 – 5. Bunganya ada yang sempurna (hermaprodit) sehingga pembuahannya akan terbentuk bila terjadi penyerbukan. Ada pula yang tanpa penyerbukan (partenokarpi) sehingga terbentuk buah jambu biji tanpa biji.



Gambar 2.1.2.3. Bunga tanaman jambu biji (Parimin, 2005)

2.1.2.4. Buah jambu biji

Buah jambu biji berbentuk bulat, bulat telur atau bulat lonjong. Panjang 5 – 8,5 cm. Kulit buah berwarna hijau saat muda dan berubah kuning muda mengkilap setelah matang. Untuk jenis tertentu, kulit buah berwarna hijau berbelang kuning saat muda dan berubah menjadi kuning belang-belang saat matang. Ada juga yang berkulit merah saat muda dan merah tua saat tua. Dalam daging buahnya terdapat biji, ada yang banyak atau sedikit tergantung jenisnya dan ada pula yang tanpa biji (sukun). Warna daging buah pada umumnya putih biasa, putih susu, putih kekuningan, merah muda, merah menyala atau merah tua. Pada saat masih muda, buah jambu biji sangat keras dan rasanya sepet. Setelah matang, buahnya cukup lunak, aromanya harum dan rasanya manis.



Gambar 2.1.2.4. Buah jambu biji matang (Parimin, 2005)

2.1.2.5. Akar tanaman jambu biji

Tanaman jambu biji berakar tunggang. Perakarannya lateral, berserabut cukup banyak dan tumbuh relatif cepat. Perakaran jambu biji cukup kuat dan penyerapan unsur haranya cukup efektif sehingga mampu berbuah sepanjang tahun. Akar pancar (ibu akar) mampu menembus tanah yang keras dan berbatu-batu. Akar datarnya berada tidak dalam di bawah tanah. Akar ini mudah membentuk tunas jika letaknya di atas tanah dan dilukai atau terpotong. Perakarannya tahan terhadap genangan air yang cukup lama.

2.1.3. Kandungan tanaman jambu biji

Bagian tumbuhan jambu biji dapat memiliki khasiat untuk pengobatan, karena masing-masing bagian tumbuhan tersebut mengandung zat-zat kandungan. Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan oleh para pakar diketahuilah zat-zat kandungan dalam bagian tumbuhan jambu biji tersebut, diuraikan sebagai berikut

(Depkes RI, 1977; Mardiswojo, Rajakmangunsudarso, 1985; Dweck, 2005; Murniati, 2006):

2.1.3.1. Daun jambu biji

Daun jambu biji mengandung senyawa aktif sebagai berikut:

Bagian	Kandungan senyawa aktif
Daun	Alkohol, aldehida, hidrokarbon alifatik, alkohol aromatik, kadalena, kalsium, karbohidrat, β -kariofilena, kasuarinin, klorofil A, klorofil B, sineol, tanin terkondensasi, asam katekolat, asam 2α - 3β -dihidroksi-olean-12-en-28-oat, asam 2α - 3β -dihidroksi-urs-12-en-28-oat, minyak atsiri, galiotanin, 4 gentiobiosida asam elagat, guajaverin, asam guajavolat, guavin A, guavin B, guavin C, guavin D, avicularin, tanin yang dapat terhidrolisis, asam 2α -dihidroksi ursolat, unsure anorganik, isostriktinin, leukosianidin, limonena, D-limonena, lutein, asam mastinat, monoterpenoid, neo β -karotena U, nerolidol, asam oleanolat, asam oksalat, pedunculagin, pigmen, kalium, asam psidiolat, kuersetin , sesquiguavaena, sesquiterpenoid, β -sitosterol, stakiurin, striknin, telimagrandin I, triterpenoid, asam ursolat.
Minyak atsiri daun	Aromadendrena, β -bisabolena, kariofilena, kariofelen oksida, longisiklana, nerolidol, silen-11-en-4 α -oleh, β -selinena.

Pada penelitian ini senyawa aktif utama yang akan diujicobakan adalah kuersetin, karena diduga mempunyai khasiat antioksidan yang paling poten dan tidak menimbulkan efek samping konstipasi (Morand *et.al.*, 1998; Middleton *et.al.*, 2000).

2.1.3.2. Buah jambu biji

Buah jambu biji mengandung beragam vitamin dan mineral. Kandungan gizi yang paling menonjol adalah vitamin C, yakni 87 mg untuk setiap 100 g buah segar. Jumlah kandungan vitamin C ini jauh lebih banyak jika dibandingkan dengan kandungan vitamin C pada buah asam jawa yang hanya 2 mg, jambu air 5 mg, dan jeruk nipis 27 mg untuk setiap 100 g buah segar. Setiap jambu biji terdiri atas 82 % bagian yang dapat dimakan. Sedangkan kandungan airnya 86 % dan kandungan kalsiumnya setara dengan buah mangga golek dan sirsak. Kandungan gizi buah jambu biji secara lengkap dapat dilihat pada tabel sebagai berikut (Murniati, 2006):

Tabel 2.1.3.2. Kandungan gizi jambu biji

Tabel 1: Kandungan gizi jambu biji

No.	Komposisi	Jumlah
1	Kalori (energi)	49,00 kal
2	Protein	0,90 g
3	Lemak	0,30 g
4	Karbohidrat	12,20 g
5	Kalsium	14,00 mg
6	Fosfor	28,00 mg
7	Zat besi	1,10 mg
8	Vitamin A	25,00 mg
9	Vitamin B1	0,02 mg
10	Vitamin C	87,00 mg
11	Air	86,00 g
12	Bagian dapat dimakan (bdd)	82,00 %

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (1979)

2.1.3.3. Biji buah jambu biji

Biji dalam buah jambu biji mengandung 14 % minyak, 15 % protein dan 13 % karbohidrat, *acylated flavonol glycoside*, *quercetin-3-O-β-D-(2''-O-gallyol glucoside)-4'-O-vinylpropionate* (Dweck, 2005).

2.1.3.4. Kulit kayu tanaman jambu biji

Kulit kayu jambu biji mengandung 12-30 % tanin, resin, kristal kalsium oksalat (Dweck, 2005).

2.1.3.5. Akar tanaman jambu biji

Akar pohon jambu biji mengandung tannin, leukosianidin, sterol, asam galat, karbohidrat dan garam (Dweck, 2005).

2.1.3.6. Ranting tanaman jambu biji

Ranting pohon jambu biji mengandung kalsium (0,30-1,00%), magnesium (0,06-0,30%), fosfor (0,10-0,38%), potassium (0,21-0,39%), sodium (0,03-0,20%), fluor (0,02-0,11 ppm), *copper* (0,02-0,14 ppm), besi (2,86-5,14 ppm), seng (0,31-0,57 ppm), manganase (0,00-0,26 ppm), dan timah (0,00-0,11 ppm) (Dweck, 2005).

2.1.4. Manfaat tanaman jambu biji

Hampir semua bagian tanaman jambu biji bermanfaat bagi kehidupan. Kayu jambu biji yang halus, keras dan sangat padat baik untuk ukiran atau patung bernilai tinggi, juga berbagai peralatan yang menggunakan kayu seperti gagang cangkul, palu dan pisau. Selain itu, arang dari kayu jambu biji sangat baik untuk

pembakar karena apinya sangat panas, asap yang ditimbulkannya sedikit dan nyala apinya tahan lama. Sedangkan buahnya dapat dikonsumsi dalam keadaan segar. Buah jambu biji dapat diolah menjadi sirup, sari buah, nektar, jeli, selai, kembang gula dan dodol. Berdasarkan hasil penelitian, kandungan zat gizi dalam jambu biji dapat digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan beberapa penyakit (Paimin, 2005).

Dalam kehidupan masyarakat, beberapa bagian dari tanaman jambu biji seperti akar, kulit kayu dan daun jambu biji dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat resep pengobatan. Beberapa resep tanaman jambu biji telah terbukti mengobati berbagai penyakit, antara lain penyakit saluran cerna, muntah, diare, disentri, demam berdarah, luka baru, sariawan, sakit gigi, batuk, luka tenggorokan, radang gusi, keputihan dan lainnya (Mardisiswojo, Rajakmangunsudarso, 1985; Dweck, 2005).

Jambu biji mengandung vitamin C yang cukup tinggi. Kandungan vitamin C jambu biji dua kali lebih banyak dari jeruk manis hanya 49 mg per 100 g. Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan, namun sebagian besar vitamin C jambu biji terkonsentrasi di kulit dan daging bagian luarnya yang lunak dan tebal. Budaya makan buah di kalangan masyarakat perlu tetap dipertahankan dan ditingkatkan, baik sebagai makanan penutup (pencuci mulut) atau sebagai *snack*. Dalam literatur disebutkan bahwa kebutuhan vitamin C anak laki-laki atau perempuan (usia 13-20 tahun) sebanyak 80-100 mg dan orang dewasa 70-75 mg. Berat jambu biji sebesar 275g/buah dapat mencukupi kebutuhan vitamin C tiga orang dewasa atau dua orang anak usia 13-20 tahun per harinya (Parimin, 2005).

Daun, tangkai, kulit kayu dan kulit akar tanaman jambu biji berfungsi sebagai astringen (bahan pengencang), yang biasa dipakai sebagai pengobatan diare. Berdasarkan hasil penelitian bahwa dalam ekstrak daun dan kulit tanaman jambu biji terdapat senyawa polifenol yang bekerja sebagai antibakteri terhadap mikroba *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Shigella dysenteria*, *Streptococcus spp*, *Sarcina lutea* dan *Mycobacterium phlei* (Dweck, 2005).

Beberapa tahun terakhir ini ditemukan bahwa senyawa polifenol dalam daun jambu biji sangat potensial sebagai antioksidan yang dapat meredam radikal bebas dan mencegah beberapa penyakit (He, Venant, 2004). Di antara senyawa polifenol yang diduga mempunyai antioksidan paling kuat adalah kuersetin, yang termasuk polifenol golongan flavonoid (Lopez *et.al.*, 2003). Morand *et.al.* (1998) membuktikan bahwa kuersetin dalam plasma darah potensial sebagai antioksidan dalam menghambat peroksidasi lemak dengan cara meredam radikal bebas atau sebagai bahan pengikat logam.

2.1.5. Penggunaan daun jambu biji

Daun jambu biji bisa digunakan melalui beberapa cara antara lain dimakan mentah, dimasak atau pembuatan ekstrak. Dalam keadaan mentah senyawa antioksidan polifenol dalam daun jambu biji dalam keadaan terikat satu sama lain oleh ikatan polimer. Dalam keadaan terpolimerisasi, senyawa antioksidan tidak bisa bergerak secara bebas, sehingga tidak dapat menunjukkan potensinya, dengan kata lain dalam keadaan tidak aktif. Bila dipanaskan/dimasak maka ikatan

polimernya terlepas dan senyawa antioksidan dapat bergerak bebas sehingga lebih mudah diserap di saluran cerna (Niwa, 1997). Namun, daun jambu biji mengandung senyawa tanin yang memberikan efek astringen (bahan pengencang) dan dapat menyebabkan efek samping konstipasi (sembelit), bila dikonsumsi mentah maupun matang (Dweck, 2005).

Pembuatan ekstrak bertujuan untuk menghilangkan efek samping astringen maupun efek dari bahan-bahan yang tidak bermanfaat. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang optimal untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lainnya, serta hanya mengandung sebagian besar senyawa yang diinginkan (Depkes RI, 1995).

Flavonoid merupakan senyawa polar sehingga flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfokida, dimetilformamida, air dan lain-lain. Kuersetin merupakan senyawa polifenol golongan flavonoid yang larut dalam etanol, ekstraksi dapat dilakukan dengan etanol 50 %, 70 % dan 96 %. Ekstraksi yang dapat menghasilkan kadar kuersetin optimum dalam daun jambu biji adalah ekstraksi dengan etanol 70 % (Pusposari, 2004).

2.1.6. Metabolisme flavonoid

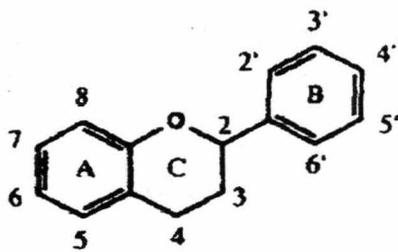
Dalam saluran cerna, cincin senyawa polifenol flavonoid akan didegradasi oleh mikroorganisme yang selanjutnya mengalami demetilasi dan dehidroksilasi asam fenolik, membentuk derivat asam sinamat dan senyawa fenol sederhana. Flavonoid dapat mengalami oksidasi dan reduksi, seperti metilasi, glukoronidasi dan sulfasi untuk meningkatkan kelarutannya dalam air (polaritas) dan dengan demikian memudahkan ekskresinya dari dalam tubuh. Dengan pemberian secara peroral, flavonoid dapat diserap dan dimetabolisme dengan cepat dan diekskresi dalam 24 jam. Flavonoid diubah menjadi bentuk metabolit tersulfat dan atau terglukoronidat yang kurang aktif, kemudian diekskresi melalui urin atau empedu (Middleton *et.al.*, 2000; Murray *et.al.*, 2003).

2.1.7. Tinjauan tentang senyawa polifenol

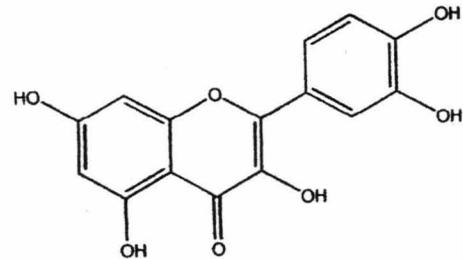
Senyawa fenol adalah senyawa yang memiliki gugus hidroksil ($-OH$) pada cincin benzene (*ring benzena*). Sedangkan senyawa polifenol adalah senyawa yang mengandung lebih dari satu senyawa fenol. Senyawa fenol mempunyai gugus $-OH$ yang dapat berfungsi sebagai pengikat senyawa lain atau mengikat ion logam transisi terutama *iron* dan *copper* (Halliwell, Gutteridge, 1998).

Banyak tumbuhan memiliki kandungan senyawa polifenol termasuk diantaranya flavonoid yang terkandung pada daun jambu biji. Flavonoid yang ada dalam tumbuhan dikenal sebagai pigmen untuk warna daun. Flavonoid ini mempunyai berat molekul yang rendah dan memiliki tiga struktur cincin yang bervariasi. Flavonoid dapat dibagi menjadi subdivisi berdasarkan adanya gugus oksidasi pada posisi 4 cincin C (tengah), ikatan rangkap antara atom karbon 2 (C_2) dan

3 (C₃) pada cincin C, dan gugus hidroksil pada posisi 3 di cincin C. Subdivisi tersebut antara lain flavanol, antosianidin, flavone, flavanone, chalcone dan flavonol. Ciri khas ini dapat untuk memperoleh aktivitas potensial terutama sebagai antioksidan yang dapat meredam senyawa ROS (Middleton *et.al.*, 2000).



Flavonoid



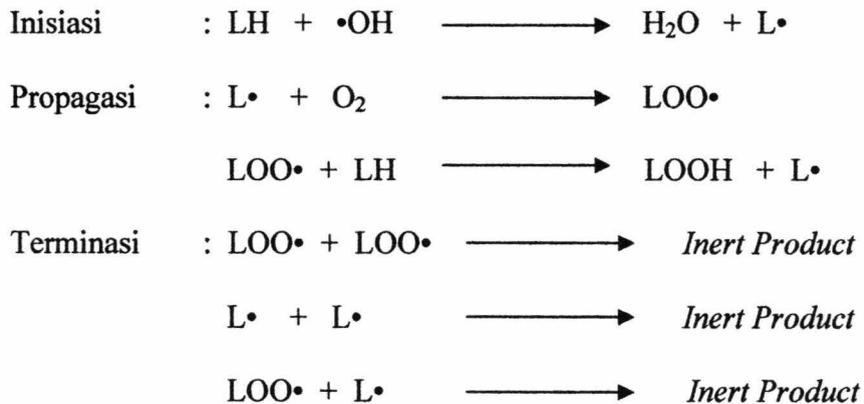
Kuersetin

Gambar 2.1.7. Rumus bangun flavonoid dan kuersetin (Papas, 1999; Middleton *et.al.*, 2000; Lakhanpal *et.al.*, 2007)

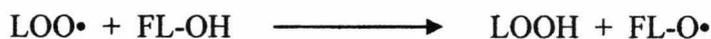
Flavonoid telah lama dikenal memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antialergi, hepatoprotektif, antitrombosis, antiviral dan antikarsinogen. Sebagai antioksidan, flavonoid dapat meredam senyawa ROS antara lain superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidroperoksil ($HO_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil ($\bullet OH$), radikal alkoksil ($RO\bullet$), radikal peroksil ($ROO\bullet$), dan singlet oksigen (1O_2). Diantara senyawa flavonoid yang diduga paling potensial sebagai antioksidan adalah kuersetin. Daun jambu biji mengandung senyawa polifenol diantaranya kuersetin. Kuersetin merupakan flavonoid subdivisi flavonol yang memiliki gugus oksi pada posisi 4, ikatan rangkap antara atom C₂ dan C₃, dan gugus hidroksil pada posisi 3, di cincin C (tengah) (Morand *et.al.*, 1998; Middleton *et.al.*, 2000).

Kuersetin dalam daun jambu biji berpotensi sebagai antioksidan lipofilik yang bekerja di permukaan membran sel yang bereaksi dengan radikal peroksil ($\text{ROO}\cdot$). Radikal peroksil ini sangat reaktif dan jauh lebih berbahaya dibandingkan dengan hidrogen peroksida (H_2O_2), karena radikal peroksil akan membentuk radikal baru dan H_2O_2 . Peran kuersetin adalah meredam atau menghambat peroksidasi lemak terutama pada tahap propagasi yang berfungsi sebagai antioksidan pemutus rantai (Middleton *et.al.*, 2000):

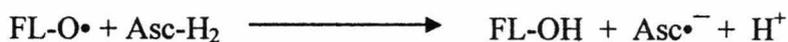
Induksi peroksidasi lemak :



Senyawa golongan antioksidan fenolik seperti flavonoid dapat mencegah pada tahap propagasi sebagai berikut:



FL-OH adalah flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan pemutus rantai. Selanjutnya radikal flavonoid dapat bereaksi dengan asam askorbat (Vitamin C) membentuk flavonoid dan radikal askorbat ($\text{Asc}\cdot^-$), reaksinya sebagai berikut:



Radikal vitamin C ini dapat dihilangkan melalui reaksi dismutasi yang menghasilkan vitamin C dan dehidro-asam askorbat (DHAA):



DHAA dapat direduksi oleh glutathion (GSH) membentuk asam askorbat kembali. Oleh karena itu kombinasi diet flavonoid dan vitamin C akan menghasilkan interaksi antioksidan yang sinergis dalam menghambat peroksidasi lemak.

Terminasi radikal lemak ($\text{L}\cdot$), radikal peroksil lemak ($\text{LOO}\cdot$) dan radikal alkoksil ($\text{LO}\cdot$) yang dibentuk oleh reinisiasi peroksidasi lemak karena induksi ion logam, diredam oleh antioksidan fenolik sebagai berikut:



A-OH adalah senyawa fenolik diantaranya flavonoid dan α -tokoferol, sedangkan $\text{AO}\cdot$ adalah radikal fenoksil. Reaksi di atas yaitu reaksi antara flavonoid dengan radikal peroksi lemak ($\text{LOO}\cdot$) menunjukkan sebagai aktivitas antioksidan pemutus rantai, mekanisme ini juga ditunjukkan oleh kuersetin.

Kuersetin merupakan flavonoid yang paling banyak di konsumsi. Kebutuhan akan flavonoid total sehari diperkirakan sekurang-kurangnya 23 mg/hari, sedangkan kuersetin 16 mg/hari (Halliwell, Gutteridge, 1999). Pemberian kuersetin dengan flavonoid yang lain pada dasarnya aktivitas antioksidannya lebih efektif daripada hanya diberikan kuersetin saja. Pemberian diet kuersetin peroral dapat diabsorpsi dan dapat mencapai jaringan dan plasma darah. Kuersetin dalam darah dieliminasi secara lambat (Morand *et.al.*, 1998; Middleton *et.al.*, 2000).

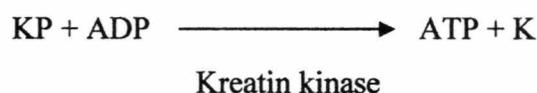
Kandungan daun jambu biji telah dijelaskan selain mengandung kuersetin juga didapatkan senyawa fenol yang lain. Oleh sebab itu tentunya daun jambu biji selain dapat berfungsi sebagai antioksidan pemutus rantai, juga dapat meredam gugusan superoksida yang artinya dapat membantu kerja enzim SOD.

2.2. Latihan Olahraga

Latihan fisik merupakan kegiatan fisik menurut cara dan aturan tertentu yang mempunyai sasaran untuk meningkatkan efisiensi faal tubuh. Peningkatan yang diperoleh dari latihan fisik antara lain, peningkatan kemampuan gerak, tidak cepat lelah, peningkatan ketrampilan dan sebagainya. Berolahraga juga merupakan kerja fisik yang memberikan berat pembebanan yang berbeda sesuai dengan cabang olahraga yang dilakukan. Latihan olahraga dengan intensitas berat dilakukan dengan memberikan beban maksimum yang dikerjakan untuk waktu yang pendek dan diulang beberapa kali. Pada latihan olahraga dengan intensitas berat energi predominasi terutama bersumber dari metabolisme anaerobik. Anaerobik adalah rangkaian proses metabolisme penyediaan energi (ATP) yang tidak memerlukan oksigen. Energi untuk metabolisme anaerobik bersumber dari sistem ATP-KP (fosfagen) dan glikolisis anaerobik (sistem asam laktat) (Fox *et.al.*, 1993).

2.2.1. Sistem ATP-KP (sistem fosfagen)

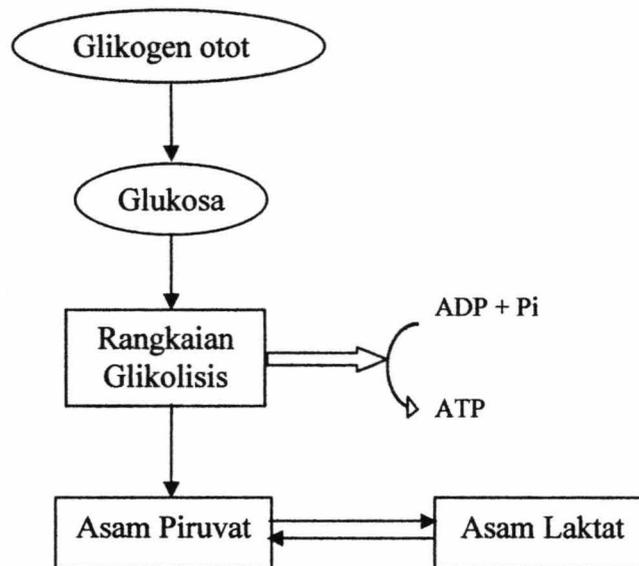
Pada sistem ini sintesis ATP menggunakan substansi kreatinfosfat (KP). ATP yang tersedia dalam otot sangat terbatas jumlahnya, dan hanya dapat dipakai untuk kontraksi otot pada detik pertama. Karena itu, terdapat senyawa kreatinfosfat yang berfungsi membantu pembentukan kembali ADP menjadi ATP.



Namun jumlah ATP yang berasal dari sistem fosfagen ini sangat terbatas, dan berlangsung hanya beberapa detik pada fase permulaan kontraksi otot (Soerjodibroto, 1984; Fox *et.al.* , 1993).

2.2.2. Glikolisis anaerobik (Sistem asam laktat)

Apabila oksigen tidak mencukupi, maka penyediaan ATP masih dimungkinkan dengan cara pemecahan glikogen tanpa oksigen atau disebut glikolisis anaerobik. Produk akhir dari glikolisis anaerobik ini adalah asam laktat.



Gambar 2.2.2. Glikolisis anaerobik (Soekarman, 1987; Fox *et.al.* , 1993)

Asam laktat yang terbentuk di otot akan dibawa ke dalam sirkulasi darah dan kemudian dibawa ke hati untuk diubah kembali menjadi glukosa. Glukosa ini akan dibawa kembali ke otot untuk dipecah dengan menghasilkan energi, proses ini disebut sebagai siklus Cori. Siklus Cori ini terutama sangat berperan pada olahraga berat atau berat sekali (Soerjodibroto, 1984).

Olahraga dengan intensitas berat dapat ditentukan dengan tiga parameter yaitu (Fox *et.al.* , 1993) :

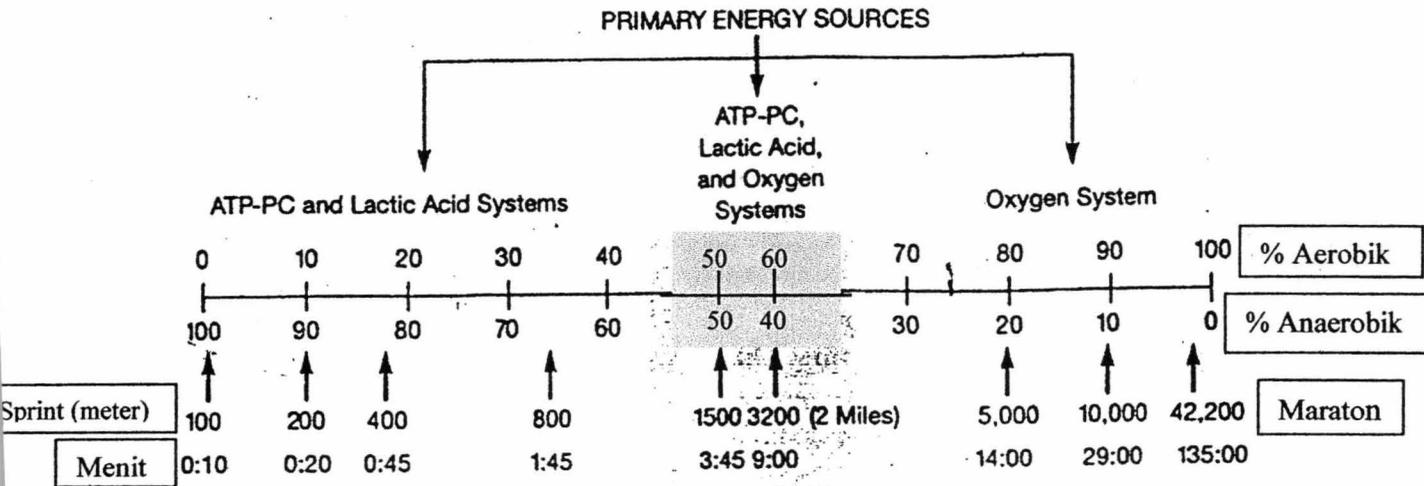
1. Intensitas latihan

Intensitas latihan biasanya dinyatakan dengan prosentase (%) terhadap kemampuan maksimal, ambilan oksigen maksimal (*maximal aerobic power/VO₂max*) atau kecepatan denyut jantung maksimal (*maximal heart rate/HRmax*) per satuan waktu. Makin besar pemakaian oksigen maka makin tinggi frekuensi jantung sampai tercapai frekuensi jantung maksimal. Frekuensi jantung maksimal perlu diketahui oleh karena sangat erat hubungannya dengan penentuan beban yang akan diberikan untuk mencapai efek latihan pada tubuh. Makin berat beban yang diberikan makin besar efek latihan sampai tercapai beban maksimal. Rentang ambang dominan anaerobik (*anaerobic threshold*) adalah antara 55% - 75%. Latihan dengan intensitas berat merupakan latihan yang menggunakan sistem energi dominan anaerobik dimana rentangannya adalah lebih dari 75 %. Sedangkan kurang dari 55% adalah olahraga sedang hingga ringan dengan sumber energinya dominan aerobik.

2. Waktu maksimal kerja

Yaitu waktu maksimal yang dapat ditempuh untuk suatu beban/intensitas kerja. Prosentase waktu maksimal kerja dalam keadaan seimbang predominan anaerobik dan predominan aerobik (50% : 50%) dicapai dalam waktu 3.45 menit. Latihan dengan intensitas berat yang menggunakan energi predominan anaerobik dapat dilakukan dengan waktu maksimal kerja yang kurang dari 3:45 menit.

Sedangkan lebih dari 3:45 menit adalah latihan olahraga sedang hingga ringan dengan sumber energinya predominan aerobik.



Gambar 2.2.2.2. Sistem energi menurut waktu maksimal kerja (Fox *et.al.*, 1993)

Gambar di atas menunjukkan *energy continuum* untuk olah raga lari. Namun konsep *energy continuum* ini bisa berlaku untuk semua jenis olahraga. Sebelah kiri adalah lari 100 meter atau olahraga dengan intensitas berat dengan sistem energinya hampir 100% anaerobik. Sebelah kanan, lari marathon atau olahraga dengan intensitas sedang hingga ringan merupakan olahraga dengan sistem energi predominan aerobik. Daerah abu-abu (*gray zones*) merupakan variasi intensitas latihan campuran dengan sistem energi dari metabolisme aerobik dan anaerobik (Fox *et.al.*, 1993).

3. Kadar Asam laktat

Olahraga dengan intensitas berat dengan sumber energinya predominan anaerobik dapat ditentukan dengan adanya kadar asam laktat darah, yaitu bila mencapai 4 mmol/L. Olahraga dengan intensitas sedang hingga ringan

menghasilkan kadar asam laktat kurang dari 4 mmol/L, akan tetapi jumlah ini dapat berubah-ubah dan bervariasi pada tiap olahragawan. Cara ini juga relatif lebih sulit dikerjakan dan lebih mahal.

Dari ketiga cara untuk menentukan bahwa telah melakukan latihan olahraga dengan intensitas berat, yang paling memungkinkan untuk hewan coba tikus wistar adalah cara yang kedua yaitu dengan parameter waktu maksimal kerja, karena lebih mudah dikerjakan dan biaya lebih murah.

Prinsip latihan untuk ketahanan dan kekuatan olahraga dengan intensitas berat adalah memberikan beban maksimum yang dikerjakan untuk waktu yang pendek dan diulang beberapa kali. Maksud latihan ini ialah meningkatkan persediaan ATP-KP dalam otot, peningkatan kadar glikogen maupun meningkatkan nilai ambang predominan anaerobik (Soekarman, 1987).

Kapasitas untuk melakukan kerja habis-habisan (*all-out exercise*) untuk waktu yang pendek sampai 60 detik terutama bergantung pada ATP yang dihasilkan oleh proses predominan anaerob, terutama bergantung pada simpanan otot dalam bentuk ikatan fosfat yang mengandung banyak energi. Untuk meningkatkan simpanan fosfat ini dapat dilakukan latihan yang melibatkan otot-otot tertentu berupa kerja maksimum berulang-ulang secara tiba-tiba selama 5-10 detik. Karena simpanan fosfat berenergi tinggi yang menghasilkan energi untuk kerja yang berat dan terputus-putus ini hanya sedikit terjadi asam laktat, dan karena itu pemulihan kerja berlangsung singkat yaitu cukup setelah 30-60 detik masa istirahat. Jenis kerja seperti ini dimana dilakukan kerja habis-habisan yang waktunya singkat diantara dengan waktu istirahat atau waktu pulih asal adalah

suatu latihan interval yang perlu untuk suatu latihan olahraga dengan intensitas berat yang sistem energinya predominan anaerobik (Yazir, 1986).

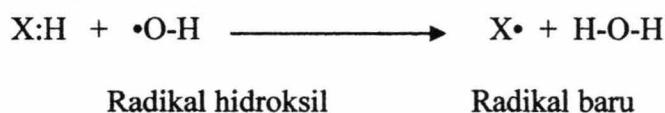
Dalam interval istirahat ini tubuh diberi kesempatan untuk pulih asal. Biasanya lama istirahat tergantung dari kecepatan nadi. Kalau nadi sudah mencapai 120 maka latihan dapat dimulai lagi. Untuk memudahkan serta tidak perlu menghitung nadi dapat digunakan pedoman rasio interval kerja dan interval istirahat. Pada interval kerja yang panjang maka rasio dengan interval istirahat 1:½ atau 1:1. Pada interval kerja yang sedang, rasio menjadi 1:2, dan pada interval kerja yang singkat dengan beban yang berat, rasionya 1:3 (Soekarman, 1987).

2.3. Oksidan dan Radikal Bebas

Oksidan merupakan bahan yang potensial merusak sel. Oksidan dalam pengertian ilmu kimia adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron. Ion ferri (Fe^{3+}) misalnya, adalah oksidan:



Sebaliknya radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*). Elektron yang tidak berpasangan cenderung untuk membentuk pasangan, dan ini terjadi dengan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal baru:

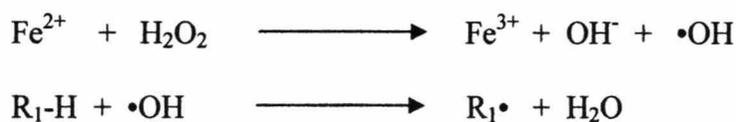


Radikal bebas dan oksidan mempunyai sifat yang sama yaitu kecenderungan untuk menarik elektron, oleh karena itu radikal bebas disebut juga suatu oksidan. Akan tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan oksidan yang bukan radikal. Radikal bebas mempunyai sifat reaktivitas yang tinggi dan cenderung untuk membentuk radikal baru (Youngson, 1994; Halliwell, Gutteridge, 1999).

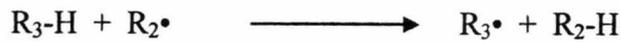
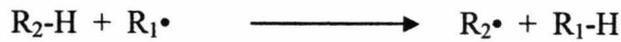
Radikal bebas diproduksi secara terus menerus di semua sel sebagai bagian dari fungsi seluler yang normal. Namun, bila diproduksi secara berlebihan baik radikal bebas endogen maupun eksogen maka dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan memicu terjadinya berbagai penyakit (Young dan Woodside, 2001). Radikal bebas endogen adalah radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh kita, antara lain produk dari proses fisiologis normal seperti fosforilasi oksidatif untuk menghasilkan ATP di mitokondria dan oksigenasi haemoglobin di eritrosit, atau diproduksi sel-sel inflamatori. Sedangkan radikal bebas eksogen adalah radikal bebas yang bersumber dari luar tubuh, antara lain oleh karena polutan, asap rokok, obat-obatan, bahan kimia dan oleh karena ionisasi radiasi (ultraviolet dan *X-rays*) (Youngson, 1994; Halliwell, Gutteridge, 1999).

Seluruh reaksi berantai radikal bebas dapat dijabarkan menjadi tiga tahap sebagai berikut (Amin, 1996):

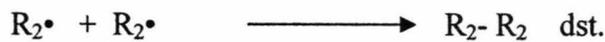
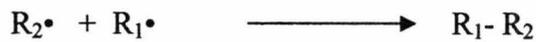
1. Tahap inisiasi:



2. Tahap propagasi:



3. Tahap terminasi:



Dengan demikian daya perusak radikal bebas jauh lebih besar dibandingkan oksidan biasa. Radikal bebas umumnya tidak stabil dan berumur sangat pendek.

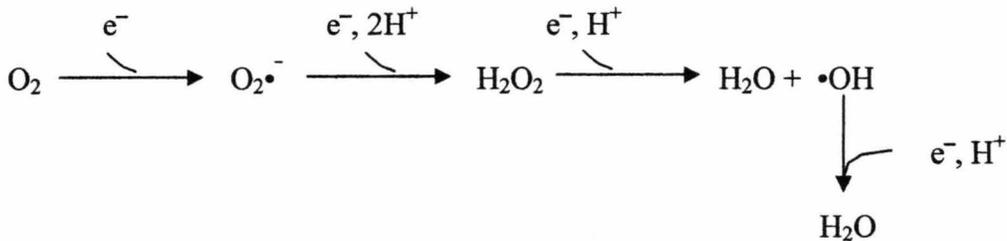
2.4. Reactive Oxygen Species (ROS)

ROS merupakan oksidan yang diturunkan dari oksigen (O_2) termasuk radikal oksigen maupun non radikal, sebagai hasil dari berbagai peristiwa biologis maupun patologis dalam tubuh. ROS tersebut sebagai berikut (Marks *et.al.*, 2000; Halliwell, Gutteridge, 1999):

Tabel 2.4. *Reactive oxygen species* (ROS)

Radikal	Non-Radikal
Superoksida ($O_2\bullet^-$)	Hidrogen peroksida (H_2O_2)
Hidroksil ($\bullet OH$)	Asam hipoklorit ($HOCl$)
Peroksil ($ROO\bullet$)	Singlet oksigen (1O_2)

Pembentukan ROS dapat terjadi oleh karena reduksi oksigen yang tidak sempurna. Langkah-langkah reduksi oksigen sebagai berikut:



Transfer satu elektron menghasilkan superoksida, dua elektron menghasilkan H_2O_2 , tiga elektron menghasilkan radikal hidroksil dan bila menerima 4 elektron akan membentuk $2\text{H}_2\text{O}$. Enzim SOD meredam superoksida ($\text{O}_2^{\bullet -}$) sehingga mencegah terbentuknya hidrogen peroksida (H_2O_2).

2.4.1. Superoksida ($\text{O}_2^{\bullet -}$)

Superoksida dapat terbentuk melalui proses-proses fisiologis seperti produk sampingan dari rantai transport elektron di mitokondria dan autooksidasi haemoglobin menjadi methemoglobin di eritrosit (Smith, 1995; Halliwell, Gutteridge, 1999).

Autooksidasi Hb:



Di jaringan, superoksida dibentuk melalui kerja enzim seperti sitokrom P450 reduktase dan xantin oksidase, atau diproduksi oleh sel-sel inflamatori karena invasi bakteri dengan dikatalisis oleh NADPH oksidase yang memperlihatkan terjadinya ledakan respirasi. Superoksida secara spontan mengalami dismutasi

sehingga terbentuk H_2O_2 dan O_2 , pada reaksi ini superoksida bertindak sebagai oksidan sekaligus sebagai reduktan (Ji, 1999; Murray *et.al.*, 2003).



Anion superoksida sangat reaktif tetapi memiliki kelarutan lemak yang terbatas dan tidak dapat berdifusi. Superoksida juga dapat menghasilkan radikal hidroksil yang lebih reaktif melalui reaksi dengan hidrogen peroksida dalam reaksi Haber-Weiss yang memerlukan besi (Marks *et.al.*, 2000).

2.4.2. Hidroksil ($\bullet\text{OH}$)

Diantara semua radikal oksigen, radikal hidroksil yang paling reaktif dan berbahaya. Radikal hidroksil dapat menjadi inisiator atau pencetus reaksi berantai yang membentuk peroksida lemak dan radikal organik. Radikal hidroksil dapat terbentuk dari hidrogen peroksida yang bereaksi dengan Fe^{2+} atau Cu^+ melalui reaksi Fenton (Young, Woodside, 2001):

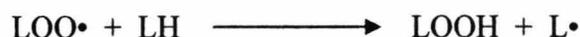


Juga dapat terbentuk dari superoksida yang bereaksi dengan hidrogen peroksida melalui reaksi Haber-Weiss:



2.4.3. Peroksil (ROO•)

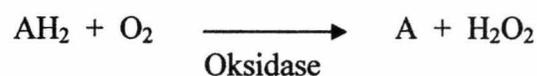
Radikal peroksil merupakan suatu radikal peroksida organik, seperti yang terbentuk sewaktu peroksidasi lemak. Radikal peroksil dapat bereaksi dengan LH lain dan terbentuk radikal baru (Marks *et.al.*, 2000).



2.4.4. Hidrogen Peroksida (H₂O₂)

H₂O₂ merupakan zat pengoksidasi tapi bukanlah suatu radikal bebas, dengan adanya Fe²⁺ atau logam transisi lainnya, dapat menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi Fenton. H₂O₂ dapat berdifusi ke dalam dan menembus membran sel (Marks *et.al.*, 2000).

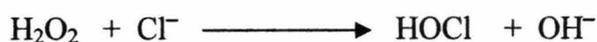
H₂O₂ terutama terbentuk karena aktivitas enzim-enzim oksidase yang terdapat dalam retikulum endoplasmik (mikrosom) dan peroksisom, enzim tersebut mengkatalisis reaksi:



Dalam eritrosit dan jaringan lain, enzim glutathion peroksidase yang mengandung selenium sebagai gugus prostetik akan mengkatalisis penghancuran H₂O₂ serta senyawa hidroperoksida lemak dengan glutathion tereduksi, melindungi membran lemak serta hemoglobin terhadap oksidasi oleh senyawa peroksida. Oleh enzim katalase, H₂O₂ akan diubah menjadi H₂O dan O₂, dimana enzim ini mampu menggunakan satu molekul H₂O₂ sebagai substrat (donor elektron) dan molekul H₂O₂ lain sebagai oksidan (akseptor elektron) (Murray *et.al.*, 2003).

2.4.5. Asam Hipoklorit (HOCl)

Asam hipoklorit dihasilkan melalui reaksi yang dikatalisis oleh enzim mieloperoxidase (MPO), yaitu reaksi antara H_2O_2 dan Cl^- membentuk HOCl:



MPO merupakan enzim yang mengandung Fe-hem dan terdapat di dalam granula neutrofil dan sel granulomatososa lainnya. MPO disekresikan sebagai respon terhadap agen yang infeksius, hasilnya digunakan untuk menyerang membran sel dan senyawa lain dari sel bakteri, dan akhirnya lisis bakteri. Proses ini menampakkan adanya ledakan respirasi sel (Halliwell, Gutteridge, 1999; Marks *et.al.*, 2000).

2.4.6. Singlet Oksigen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksigen merupakan bentuk yang lebih reaktif daripada oksigen (O_2) karena perbedaan pada konfigurasi elektron. Singlet oksigen dapat terbentuk melalui reaksi-reaksi (Halliwell, Gutteridge, 1999):

1) Ion hipoklorit yang dibentuk enzim MPO bereaksi dengan hidrogen peroksida ($\text{OCl}^- + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Cl}^- + \text{H}_2\text{O} + ^1\text{O}_2$); 2) Dekomposisi endoperoxida aromatik menghasilkan singlet oksigen; 3) Mekanisme Russel: peroksil bereaksi antar peroksil membentuk singlet oksigen.

2.5. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi untuk menghambat atau mencegah kerusakan sel dan jaringan akibat oksidasi. Dalam pengertian ilmu kimia, antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donor*). Namun

dalam arti biologis, antioksidan adalah semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim dan protein pengikat logam (Youngson, 1994; Amin, 1996).

Berdasarkan cara kerjanya, antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu, antioksidan pencegah (berfungsi mencegah terhimpunnya senyawa oksidan secara berlebihan) dan antioksidan pemutus rantai (berfungsi mencegah reaksi rantai yang berkelanjutan). Berdasarkan kelarutannya, antioksidan dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan lipofilik dan hidrofilik. Lipofilik bekerjanya di membran sel, sebagai contoh ialah tokoferol (vitamin E), beta karoten, ubiquinol dan flavonoid. Sedangkan hidrofilik bekerjanya di sitosol dan cairan luar sel, contoh vitamin C, glutathion dan sistein (Amin, 1996; Papas, 1999).

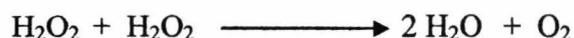
Mekanisme kerja antioksidan (Amin, 1996; Halliwell, Gutteridge, 1999):

2.5.1. Antioksidan Pencegah

Tujuan utama antioksidan jenis ini adalah mencegah terbentuknya radikal hidroksil. Untuk membentuk radikal hidroksil diperlukan tiga komponen yaitu logam transisi Fe atau Cu, H_2O_2 dan $O_2^{\bullet-}$. Agar reaksi Fenton tak terjadi maka harus dicegah adanya ion Fe^{++} atau Cu^{++} bebas. Untuk mencegah terbentuknya Fe ialah transferin dan feritin, sedangkan untuk Cu ialah seruloplasmin dan albumin. Penimbunan $O_2^{\bullet-}$ dicegah oleh enzim SOD yang mengkatalisis reaksi dismutasi $O_2^{\bullet-}$ membentuk H_2O_2 dan O_2 .

Penimbunan H_2O_2 dicegah melalui aktivitas dua jenis enzim yaitu:

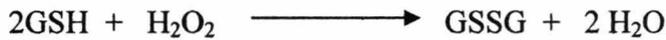
1) Katalase yang mengkatalisis reaksi dismutasi H_2O_2 :



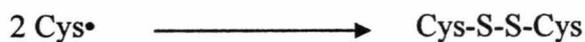
2) Peroksidase yaitu sekumpulan enzim mengkatalisis reaksi:



di antara berbagai peroksidase, yang paling penting adalah glutathion peroksidase (GPx) yang mengkatalisis reaksi:



Apabila radikal hidroksil masih saja terbentuk, masih ada sarana untuk meredamnya, tanpa memberi kesempatan untuk memulai reaksi rantai dengan reaksi yang melibatkan senyawa yang mengandung gugusan sulfhidril seperti glutathion (GSH) dan sistein (Cys-SH):



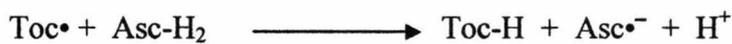
2.5.2. Antioksidan Pemutus Rantai

Dalam kelompok ini termasuk vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat), betakaroten dan dua senyawa yang juga berperan sebagai antioksidan pencegah yaitu glutathion dan sistein. Peroksidasi lemak dapat menyebabkan kerusakan sel yang berat. Reaksi ini harus diredam dengan antioksidan lipofilik misalnya tokoferol dan beta karoten. Vitamin E terdiri dari empat senyawa, yaitu alfa, beta, gama dan delta tokoferol. Karena keberadaannya dalam membrane, vitamin E dapat bereaksi dengan radikal lipid ($L\bullet$) dan radikal peroksilipid ($LOO\bullet$):



Radikal tokoferol relatif stabil, walaupun demikian senyawa tersebut perlu diredam. Ada tiga cara, yaitu:

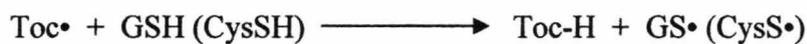
- a. $\text{Toc}\cdot$ mengalami reaksi-reaksi intramolekul menghasilkan senyawa non radikal
- b. Setelah bergeser ke arah permukaan membran, $\text{Toc}\cdot$ bereaksi dengan vitamin C (Asc-H_2) dan menghasilkan radikal vitamin C ($\text{Asc}\cdot^-$):



Radikal vitamin C ($\text{Asc}\cdot^-$) kemudian dihilangkan melalui reaksi dismutasi yang menghasilkan vitamin C dan dehidro-asam askorbat (DHAA):



- c. $\text{Toc}\cdot$ bereaksi dengan glutathion atau sistein yang juga terdapat dalam sitosol:



2.6. Stress Oksidatif

Dalam keadaan normal terdapat keseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan. Namun, keseimbangan ini dapat bergeser ke arah oksidan ketika produksi ROS sangat meningkat. Ketidakseimbangan antara sistem antioksidan dan oksidan intraselluler dalam jangka waktu lama dapat mengakibatkan stress oksidatif (Murray *et.al.*,2003).

Senyawa oksidan yang berlebihan tersebut dapat merusak tiga komponen utama penyusun sel yaitu, lemak membran sel, protein dan DNA yang

mengakibatkan perubahan fungsi seluler dan kerusakan jaringan (Schneider dan Oliveira, 2004).

Dampak ROS yang dapat merusak komponen sel adalah: (Halliwell, Gutteridge, 1999)

Lemak Membran sel

Membran sel mengandung asam lemak tak jenuh yang mengandung ikatan rangkap misalnya asam linoleat, asam linolenat dan asam arakhidonat, sangat rawan terhadap serangan radikal bebas terutama radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$). Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi berantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lemak. Akibat akhir dari reaksi berantai ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik. Dapat pula terjadi ikatan silang antara dua rantai asam lemak, atau asam lemak dan rantai peptida yang timbul karena reaksi dua radikal. Semua itu mengakibatkan kerusakan membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel.

Protein

ROS dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam amino yang menyusun protein tersebut. Diantara asam amino penyusun protein yang paling rawan adalah sistein. Sistein mengandung gugusan sulfhidril (SH) yang paling peka terhadap serangan radikal bebas terutama radikal hidroksil. Pembentukan ikatan disulfida menimbulkan ikatan intra atau antara molekul protein, sehingga protein tersebut kehilangan fungsi biologisnya.

DNA

Radikal hidroksil dapat mengakibatkan berbagai perubahan pada DNA, antara lain adalah: hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, serta terputusnya rantai fosfodiester DNA yang menyebabkan mutasi dan menimbulkan efek yang merusak sel. Ada sistem perbaikan DNA, namun kadang-kadang perbaikan DNA justru menimbulkan mutasi, karena dalam sistem perbaikan kerusakan DNA sering kali membuat kesalahan.

2.7. Hubungan antara Latihan dan Peningkatan ROS

Pada saat latihan olahraga kecepatan metabolisme mengalami peningkatan, sehingga akan meningkatkan kebutuhan oksigen di otot, jantung dan jaringan lain. Selama aktivitas otot kebutuhan energi meningkat 35 kali lipat daripada kondisi istirahat. Ambilan oksigen total (VO_2) meningkat hingga 20 kali lipat, sedangkan VO_2 otot diperkirakan meningkat 100 kali. Peningkatan produksi ROS seiring dengan peningkatan konsumsi oksigen, dan ini berhubungan langsung dengan intensitas dan atau lamanya latihan. Olahraga tak terlatih dan olahraga berat dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang menyebabkan kondisi stress oksidatif. Olahraga dengan intensitas tinggi dapat meningkatkan radikal bebas di otot skeletal dan miokardium (Ji, 1999; Schneider, Oliveira, 2004).

Sumber ROS yang distimulasi aktivitas latihan olahraga dapat terjadi melalui proses-proses sebagai berikut:

2.7.1. Rantai transport elektron di mitokondria

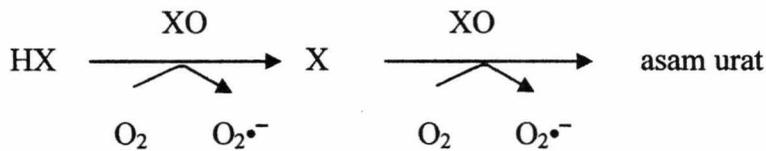
Salah satu tempat utama pembentukan radikal superoksida adalah rantai transport elektron, yaitu yang membocorkan radikal bebas di koenzim Q. Energi untuk sintesis ikatan fosfat berenergi tinggi pada ATP disediakan dari oksidasi NADH dan FADH₂ oleh rantai transport elektron secara bertahap dari NADH dan FADH₂ ke O₂. Sebagian elektron yang sedang dipindahkan, dari sejumlah unsur ekuivalen pereduksi (NADH dan FADH₂) ke ubikuinon/Q “lolos”. Kebocoran elektron ini apabila berinteraksi dengan oksigen akan membentuk superoksida. Selanjutnya superoksida akan diubah menjadi H₂O₂ oleh enzim MnSOD yang ada di mitokondria (Ji, 1999; Marks *et.al.*, 2000).

Latihan olahraga berat dapat meningkatkan produksi ROS mitokondria karena meningkatnya sistem transport elektron disebabkan meningkatnya metabolisme dan ambilan oksigen total tubuh. Pada fase istirahat dari latihan ini, konsumsi oksigen sangat tinggi sehingga produksi ROS melalui sistem transport elektron terbentuk dalam jumlah banyak (Hariyono, 2001).

2.7.2. Xantin oksidase

Xantin oksidase mengkatalisis reaksi yang menjadi salah satu sumber utama terbentuknya ROS dalam keadaan ischemia atau hipoksemia. Pada latihan dengan intensitas tinggi akan menstimulasi peningkatan kadar kalsium (Ca²⁺) intramuskuler, yang akan mengaktifkan enzim protease tergantung kalsium (*calcium-dependent protease*). Enzim ini akan mengubah xantin dehidrogenase menjadi xantin oksidase yang irreversibel. Melalui proses proteolisis intraseluler xantin oksidase (XO) akan mengkatalisis reaksi perubahan hipoxantin (HX)

menjadi xantin (X) dan asam urat menghasilkan superoksida (Schneider, Oliveira, 2004):



Selama latihan anaerobik, ATP didegradasi menjadi ADP dan AMP untuk memenuhi kebutuhan energi dan kontraksi otot. Karena suplai oksigen kurang mencukupi, maka AMP akan diubah menjadi hipoxantin, selanjutnya diubah menjadi xantin dan asam urat oleh enzim xantin oksidase dengan mereduksi satu elektron O_2 menghasilkan radikal superoksida. Dengan meningkatnya kadar hipoxantin dan xantin akan menstimulasi aktivitas enzim xantin oksidase (Ji, 1999).

2.7.3. Respon inflamasi sel polimorfonuklear (PMN)

Sel inflamatori seperti neutrofil, makrofag, eosinofil, berperan mempertahankan jaringan dari serangan virus dan bakteri. Namun, sel PMN juga berperan melindungi tubuh terhadap jaringan dan sel-sel yang rusak akibat ROS selama latihan olahraga. Neutrofil akan membentuk superoksida yang diaktivasi oleh NADPH oksidase, superoksida secara spontan atau dengan enzim SOD akan diubah menjadi H_2O_2 . Melalui reaksi Fenton yang memerlukan Fe^{2+} , H_2O_2 diubah menjadi radikal hidroksil yang lebih reaktif. Dan oleh enzim mieloperoksidase, H_2O_2 diubah menjadi asam hipoklorit (HOCl). Peristiwa ini dikenal sebagai ledakan respirasi sel (Ji, 1999; Schneider, Oliveira, 2004).

2.7.4. Sistem sitokrom P₄₅₀

Enzim sitokrom P₄₅₀ mikrosom adalah salah satu kelompok enzim utama yang menghidrosilasi banyak senyawa fisiologis, bahan xenobiotik, karsinogen atau bahan dari lingkungan. Protein P₄₅₀ terbenam di dalam membran retikulum endoplasma, yang terdiri dari dua unit fungsional: sebuah sistem reduktase pemberi elektron yang memindahkan elektron dari NADPH (sitokrom P₄₅₀ reduktase) dan sebuah sitokrom P₄₅₀ yang berikatan dengan substrat dan O₂ dan menjalankan reaksi. Pemindahan elektron H₂O₂ tunggal dari NADPH ke O₂ akan menghasilkan radikal superoksida. Kemudian superoksida mengalami dismutasi menjadi H₂O₂. Jumlah H₂O₂ akan meningkat bila konsumsi oksigen di mikrosom meningkat (Ji, 1999; Marks *et.al.*, 2000).

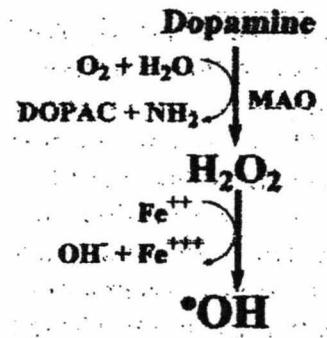
2.7.5. Katekolamin

Katekolamin merupakan hormon yang disekresi oleh kelenjar medulla adrenal yang secara fisiologis berkaitan erat dengan kerja sistem saraf simpatis. Produknya antara lain adrenalin, noradrenalin, dopamin. Sistem saraf simpatis distimulasi oleh kegiatan fisik seperti olahraga sehingga selama latihan olahraga dapat meningkatkan konsentrasi katekolamin dalam darah. Latihan olahraga yang singkat dan berulang-ulang dengan intensitas maksimal dapat menyebabkan kenaikan adrenalin darah 18 X lipat dibanding keadaan istirahat (Fox *et.al.*, 1993).

Katekolamin mempunyai kemampuan autooksidasi yang menyebabkan meningkatnya ROS. Oksidasi katekolamin akan membentuk radikal superoksida (O₂^{•-}) dan H₂O₂, kecepatan oksidasi ini akan bertambah dengan adanya ion logam

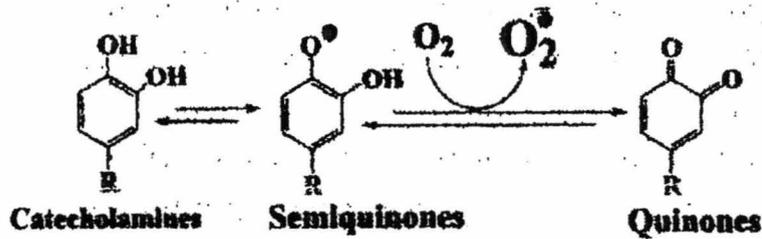
transisi seperti besi dan kopper. Dengan adanya ion logam transisi maka ROS yang terbentuk tidak hanya $O_2^{\bullet-}$ dan H_2O_2 , tetapi juga radikal hidroksil ($\bullet OH$) yang lebih reaktif melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss (Halliwell, Gutteridge, 1999). Mekanisme autooksidasi katekolamin dapat terjadi melalui dua jalur yaitu (Zhu, 2004):

1. Autooksidasi katekolamin membentuk hidrogen peroksida dan 3,4-*dihydroxyphenylacetic acid* / DOPAC (untuk dopamin), atau 3,4-*dihydroxymandelic acid*/DHMA (untuk norepineprin dan epineprin). Reaksi ini dapat juga dikatalisis oleh enzim monoamine oksidase (MAO). Selanjutnya H_2O_2 diubah menjadi radikal hidroksil melalui reaksi Fenton.



Gambar 2.7.5.1. Autooksidasi dopamin

2. Perubahan katekolamin menjadi bentuk semikuinon dan kuinon pada siklus redox menghasilkan sejumlah besar radikal oksigen superoksida ($O_2^{\bullet-}$). Semikuinon/kuinon dan radikal superoksida merupakan produk yang sitotoksik.



Gambar. 2.7.5.2. Pembentukan superoksida dari siklus redox

2.7.6. Asam laktat

Latihan olahraga dengan intensitas berat akan meningkatkan sintesis ATP melalui glikolisis anaerobik sehingga akan meningkatkan produk akhirnya yaitu asam laktat. Asam laktat akan melepaskan ion hidrogen/proton (H⁺) yang menyebabkan kadar proton bebas dalam cairan intraseluler meningkat (Fox *et.al.*, 1993). Proton dapat bereaksi dengan radikal superoksida dan menghasilkan radikal hidroperoksil (•OOH) yang lebih reaktif. Radikal hidroperoksil dapat memicu reaksi berantai pada peroksidasi lemak sebagai berikut (Halliwell, Gutteridge, 1999):



Proton juga mengkatalisis reaksi Haber-Weiss dan menghasilkan radikal hidroksil (•OH) yang paling reaktif (Marks *et.al.*, 2000).

2.8. Eritrosit (sel darah merah)

Darah terdiri atas unsur-unsur padat yaitu eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (keping darah), yang tersuspensi di dalam media cair yang disebut plasma. Eritrosit merupakan jumlah yang paling banyak. Eritrosit berfungsi untuk menyampaikan oksigen kepada jaringan dan membantu

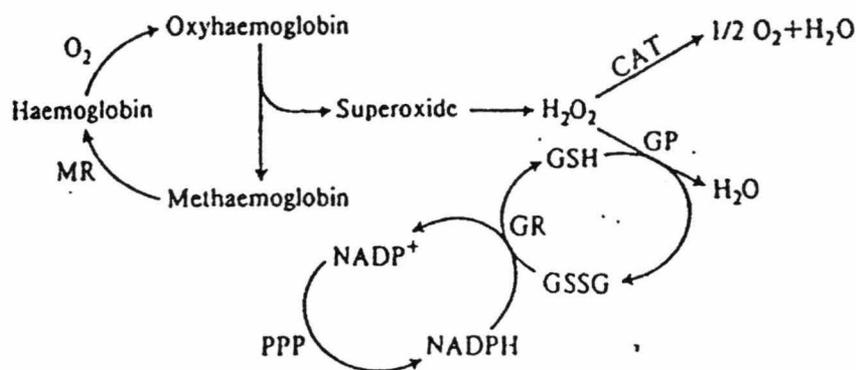
mengeluarkan karbondioksida serta proton yang terbentuk oleh metabolisme jaringan. Eritrosit tersusun dari sebuah membran yang mengelilingi larutan haemoglobin (protein ini membentuk sekitar 95 % dari protein intrasel pada eritrosit). Eritrosit tidak memiliki inti dan organel intrasel seperti mitokondria, lisosom atau aparatus golgi. Lama hidup eritrosit yang normal adalah 120 hari (Murray *et.al.*, 2003). Eritrosit berbentuk cakram dengan diameter 7,5 μm , tebal tepi 2 μm . Tengah cakram lebih tipis dengan ketebalan 1 μm . Bentuk bikonkaf akan meningkatkan rasio permukaan eritrosit terhadap volumenya sehingga memperlancar pertukaran gas antar sel dan plasma darah (Hartadi *et.al.*, 2004).

Membran eritrosit tersusun dari 46-55 % protein, 35-45 % lemak dan 10 % karbohidrat. Lemak terdiri dari 60 % fosfolipid, 10 % glikolipid dan 30 % lemak netral (terutama kolesterol) (Spielmann dan Seidl, 1970). Lemak membran banyak terdapat asam lemak tak jenuh *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang mengandung ikatan rangkap terutama golongan fosfolipid yang rentan terjadi peroksidasi lemak akibat serangan radikal bebas (radikal hidroksil/ $\bullet\text{OH}$) (Halliwell, Gutteridge, 1999).

Di dalam eritrosit terjadi proses metabolisme yang dapat menghasilkan ROS, yaitu autooksidasi haemoglobin menjadi methemoglobin akan menghasilkan radikal superoksida ($\text{O}_2\bullet^-$). Kurang lebih 3% haemoglobin dalam eritrosit akan mengalami autooksidasi tiap harinya. Superoksida secara spontan atau dengan dikatalisis enzim SOD akan didismutasi menjadi H_2O_2 dan O_2 . Radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) dapat terbentuk dari H_2O_2 dalam sebuah reaksi non-enzimatik yang dikatalisis ion Fe^{2+} (reaksi Fenton). Radikal hidroksil juga dapat

terbentuk melalui reaksi Haber-Weiss yang dikatalisis besi dengan substrat H_2O_2 dan $\text{O}_2^{\bullet-}$. Oksidan-oksidan tersebut selalu terbentuk pada proses metabolisme fisiologis, oleh sebab itu eritrosit harus menjaga keutuhan membran selnya dari pengaruh buruk oksidan tersebut dengan adanya sistem antioksidan. Sistem antioksidan dalam eritrosit terdiri dari enzim SOD, katalase dan glutathion (Murray *et.al.*, 2003).

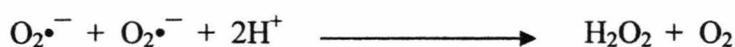
SOD merupakan enzim yang berperan pertama kali dalam meredam ROS yaitu dengan mendismutasi radikal superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$) menjadi H_2O_2 dan O_2 . Selanjutnya H_2O_2 akan dinetralisir oleh dua enzim, yang pertama, katalase akan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Yang kedua, enzim glutathion peroksidase akan mengkatalisis reaksi antara H_2O_2 dan glutathion (GSH) membentuk glutathion teroksidasi (GSSG) dan H_2O (Halliwell, Gutteridge, 1999).



Gambar 2.8. Sistem pertahanan antioksidan eritrosit
(Halliwell, Gutteridge, 1999)

2.9. Enzim superoksida dismutase (SOD)

Pertahanan enzimatik terhadap ROS dalam sel meliputi enzim SOD, katalase dan glutathion peroksidase. SOD dianggap sebagai pertahanan yang pertama/primer terhadap stress oksidatif karena SOD meredam superoksida ($O_2^{\bullet-}$) sehingga mencegah terbentuknya hidrogen peroksida (H_2O_2). Radikal superoksida merupakan inisiator reaksi berantai yang kuat (Marks *et.al.*, 2000).



Fungsi enzim SOD tampaknya adalah melindungi organisme aerob dari kemungkinan efek superoksida yang merusak. Di dalam sitosol dan mitokondria terdapat subunit isozim SOD yang berbeda yaitu CuZnSOD di sitosol dan MnSOD di mitokondria. Di sitosol mengandung satu ekuivalen Cu^{2+} dan Zn^{2+} , sedangkan di mitokondria mengandung Mn^{2+} (Murray *et.al.*, 2003).

Enzim SOD yang dimiliki eritrosit hanya subunit CuZnSOD saja, karena eritrosit tidak memiliki mitokondria. Aktivitas enzim ini dapat menurun pada keadaan-keadaan tertentu, seperti; 1) Menurunnya atau defisiensi kofaktor enzim SOD yaitu ion logam *copper* dan *zinc* (Machefer *et.al.*, 2004); 2) Terlalu sering berinteraksi dengan ROS, ROS dapat menyebabkan destruksi (denaturasi) protein enzim sehingga dapat menurunkan aktivitas enzim SOD, sementara eritrosit tidak mempunyai inti sehingga tidak memiliki kemampuan untuk mensintesis enzim SOD kembali; 3) Efek hambatan oleh ROS (H_2O_2), H_2O_2 dapat menghambat aktivitas enzim SOD dengan mereduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ , sedangkan Cu^+ diperlukan dalam reaksi Fenton dan Haber Weiss untuk menghasilkan radikal hidroksil ($\bullet OH$) (Aslan *et.al.*, 1998).

Pada keadaan stress oksidatif yang disebabkan latihan olahraga dapat menurunkan aktivitas enzim SOD. Penyebabnya antara lain: 1) Banyaknya kehilangan ion logam kopper dan zinc melalui keringat dan urin selama olahraga, 2) Kekurangan diet makanan yang mengandung ion logam kopper dan zinc selama olahraga (Machefer *et.al.*, 2004), 3) Jumlah ROS ($O_2\bullet^-$) yang terbentuk terlalu banyak, dengan beban yang berlebihan enzim SOD tidak dapat mengatasinya. Sehingga protein enzim SOD mengalami destruksi (denaturasi) yang menyebabkan aktivitasnya dalam eritrosit menurun (Aslan *et.al.*, 1998).

Daun Jambu biji mengandung senyawa polifenol terutama flavonoid kuersetin yang dapat meredam gugusan radikal superoksida maupun H_2O_2 . Dengan demikian tentunya daun jambu biji berpotensi membantu kerja enzim SOD dan dapat meningkatkan aktivitas dari enzim SOD akibat stress oksidatif yang diinduksi latihan olahraga.

2.10. Malondialdehid (MDA)

Malondialdehida sering disebut juga malonaldehida, dari asam lemak dengan tiga atau lebih ikatan rangkap, sebagai hasil degradasi lemak pada membran sel akibat peroksidasi lemak yang diinduksi ROS. Produk-produk toksik yang lain adalah 4-hydroxynonenal (HNE), etana dan pentana. Asam lemak utama yang mengalami peroksidasi lemak di dalam membran sel adalah asam lemak polyunsaturated yang memiliki banyak ikatan rangkap, seperti asam linoleat, asam arakhidonat, asam dokosaheksaenoat. MDA akan diekskresikan melalui darah dan urin dan dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat ROS (Romero *et.al.*, 1998; Halliwell, Gutteridge, 1999; Marks *et.al.*, 2000).

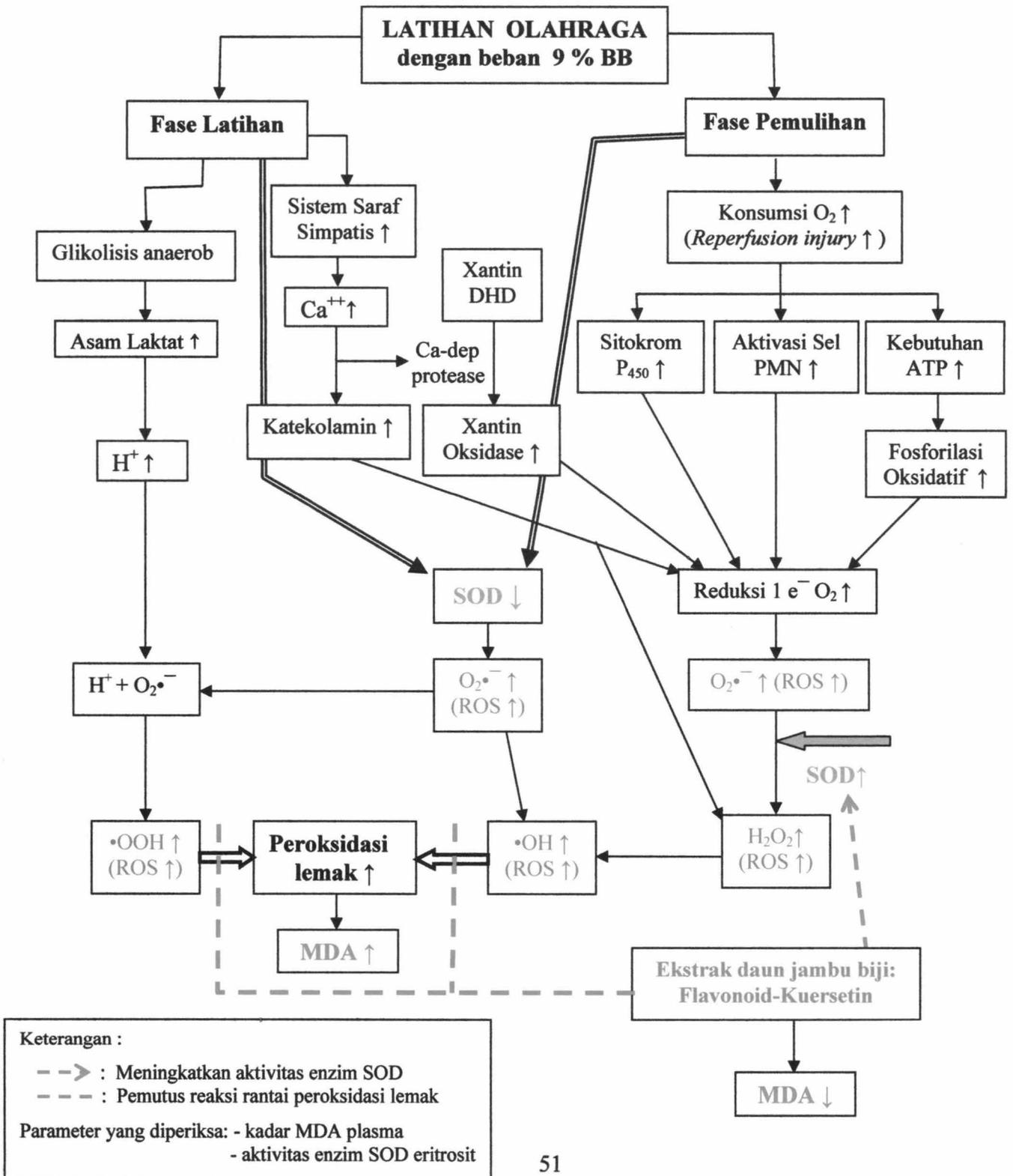
Pada stress oksidatif yang disebabkan latihan olahraga dapat meningkatkan kadar MDA eritrosit, karena terbentuknya ROS yang berlebihan terutama radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) dapat menginduksi meningkatnya peroksidasi lemak membran eritrosit sehingga dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi sel. Kadar MDA secara significant meningkat setelah latihan olahraga, dan menurun setelah 24 dan 48 jam (Fadillioglu *et.al.*, 2000).

Daun Jambu biji mengandung senyawa polifenol terutama flavonoid kuersetin yang dapat memutus reaksi berantai peroksidasi lemak pada tahap propagasi sehingga mencegah kerusakan membran eritrosit akibat serangan radikal bebas. Senyawa marker kuersetin ini juga dapat mengikat logam besi dan kopper yang diperlukan untuk reaksi Fenton dan Haber Weiss (Halliwell, Gutteridge, 1999). Dengan demikian tentunya daun jambu biji berpotensi dapat menurunkan kadar MDA eritrosit akibat stress oksidatif yang diinduksi latihan olahraga.

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian



Latihan olahraga dengan intensitas berat dilakukan dengan memberikan beban sebesar 9 % dari berat badan tikus *Rattus norvegicus*. Latihan ini menyebabkan stress oksidatif, yaitu terbentuknya ROS (*Reactive oxygen species*) yang berlebihan dalam tubuh. ROS dapat terjadi selama fase latihan maupun fase pemulihan. Pada fase latihan, keterbatasan konsumsi oksigen menyebabkan peningkatan metabolisme melalui glikolisis anaerob dengan produk akhirnya adalah asam laktat. Penumpukan asam laktat meningkatkan kadar proton bebas (H^+) dalam cairan intraseluler. Proton dapat bereaksi dengan radikal superoksida dan menghasilkan radikal hidroperoksil ($\bullet OOH$) yang lebih reaktif. Radikal hidroperoksil dapat memicu reaksi berantai peroksidasi lemak sebagai berikut:



Aktivitas olahraga merangsang sistem saraf simpatis menyebabkan pengeluaran kalsium intraseluler. Kalsium membantu sekresi katekolamin (adrenalin, noradrenalin, dopamin) dari ujung saraf simpatis. Katekolamin dapat mengalami autooksidasi menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2). Pada siklus redoks, perubahan katekolamin menjadi bentuk semikuinon dan kuinon akan menghasilkan radikal superoksida. Kalsium juga mengaktifkan enzim *calcium dependent protease*, enzim ini berperan mengubah enzim xantin dehidrogenase menjadi xantin oksidase. Xantin oksidase berperan dalam pembentukan asam urat, dengan mereduksi satu elektron pada oksigen menghasilkan radikal superoksida.

Pada fase pemulihan konsumsi oksigen sangat tinggi (*reperfusion injury* meningkat). Ambilan oksigen yang tinggi dalam sel akan menginduksi pembentukan ROS melalui enzim sitokrom P_{450} , aktivasi sel polimorfonuklear

(PMN) dan fosforilasi oksidatif di mitokondria. Dalam keadaan stress oksidatif, aktivitas enzim SOD pun menurun. Akibatnya radikal superoksida meningkat dan dengan ion logam Cu^+ akan diubah menjadi radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) melalui reaksi Haber Weiss. Radikal hidroksil inilah penyebab utama terjadinya peroksidasi lemak membran sel dengan salah satu produk akhirnya malondialdehid (MDA). H_2O_2 dapat berubah menjadi radikal hidroksil melalui reaksi Fenton dengan adanya ion logam $\text{Fe}^{++}/\text{Cu}^+$.

Ekstrak daun jambu biji mengandung senyawa flavonoid kuersetin yang dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD dan memutus reaksi berantai peroksidasi lemak membran sel. Kuersetin dapat meredam radikal superoksida ($\text{O}_2\bullet^-$), kemudian mencegah pengubahan H_2O_2 menjadi radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) dengan mengikat ion logam $\text{Fe}^{++}/\text{Cu}^+$ yang diperlukan pada reaksi Fenton dan Haber Weiss. Selanjutnya flavonoid kuersetin dapat memutus reaksi berantai peroksidasi lemak membran sel yang berfungsi sebagai antioksidan pemutus rantai. Dengan mekanisme kerja ini, maka diharapkan ekstrak daun jambu biji mampu menghambat peningkatan kadar MDA plasma dan menghambat penurunan aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* akibat latihan olahraga.

3.2. Hipotesis Penelitian

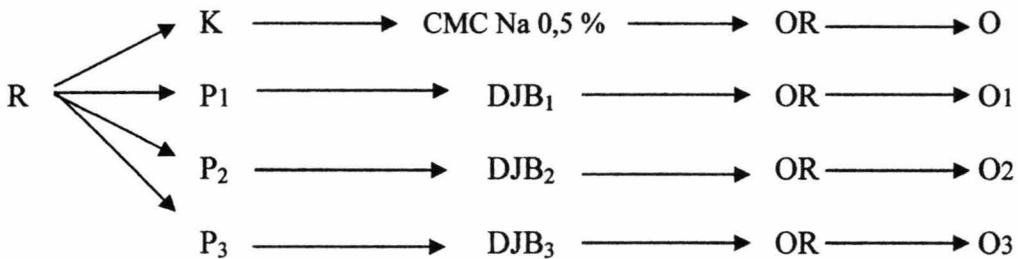
1. Pemberian ekstrak daun jambu biji menghambat peningkatan kadar MDA plasma *Rattus norvegicus* akibat aktivitas latihan olahraga.
2. Pemberian ekstrak daun jambu biji menghambat penurunan aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* akibat aktivitas latihan olahraga

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *The randomized post test only control group design*. Rancangan metode tersebut dapat digambarkan sebagai berikut (Zainuddin, 2000).



Keterangan :

R : Randomisasi

DJB : Ekstrak daun jambu biji

OR : Latihan olahraga dengan beban 9 % dari berat badan tikus

K : Diberikan CMC Na 0,5 % sebagai kontrol/placebo per oral selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum latihan renang.

P₁ : Diberikan ekstrak daun jambu biji per oral dosis 2,724 mg / 200 g BB tikus selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum latihan renang.

P₂ : Diberikan ekstrak daun jambu biji per oral dosis 5,407 mg / 200 g BB tikus selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum latihan renang.

P₃ : Diberikan ekstrak daun jambu biji per oral dosis 10,813 mg / 200 g BB tikus selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum latihan renang.

O : Kadar MDA plasma dan Aktivitas SOD eritrosit kelompok kontrol

O₁ : Kadar MDA plasma dan Aktivitas SOD eritrosit kelompok P₁

O₂ : Kadar MDA plasma dan Aktivitas SOD eritrosit kelompok P₂

O₃ : Kadar MDA plasma dan Aktivitas SOD eritrosit kelompok P₃

4.2. Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* strain Wistar, jenis kelamin jantan, umur 2 - 3 bulan dengan berat badan antara 150-250 gram dan dalam keadaan sehat fisik yang ditandai dengan keadaan umum baik dan berat badan normal (Mun'im *et.al.*, 2006). Sampel diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Besar sampel yang digunakan seluruhnya adalah 20 ekor dengan pembagian 5 ekor untuk setiap kelompok perlakuan. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan memenuhi syarat. Besar sampel ditentukan dengan rumus sebagai berikut (Sastroasmoro, Ismael, 2002) :

$$n = \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) \cdot S}{(X_t - X_c)} \right]^2$$

Keterangan :

- n = besar sampel
- Z_{α} = nilai pada kurva normal untuk nilai α tertentu,
untuk $\alpha = 0,05$ maka $Z_{\alpha} = 1,96$
- Z_{β} = nilai pada kurva normal untuk nilai β tertentu,
untuk $\beta = 0,1$ maka $Z_{\beta} = 1,28$.
- X_t = nilai rerata aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* yang diberikan latihan olahraga dan ekstrak daun jambu biji = 33,808, dan rerata kadar MDA plasma = 3,690 pada penelitian pendahuluan (lihat lampiran).
- X_c = nilai rerata kontrol aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* yang diberikan latihan olahraga tanpa ekstrak daun jambu biji = 32,362, dan rerata kontrol kadar MDA plasma = 20,052 pada penelitian pendahuluan (lihat lampiran).

S = simpangan baku aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* = 0,842, dan simpangan baku kadar MDA plasma = 0,500 pada penelitian pendahuluan (lihat lampiran).

$$n_{MDA} = 0,0098$$

$$n_{SOD} = 3,56$$

Maka pada penelitian ini digunakan lima (5) ekor tikus untuk tiap kelompok.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Klasifikasi variabel

Klasifikasi variabel pada penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas

Ekstrak daun jambu biji

2. Variabel tergantung

- a. Kadar MDA plasma darah

- b. Aktivitas SOD eritrosit

4.3.2. Definisi operasional variabel

1. Ekstrak daun jambu biji:

Ekstrak daun jambu biji yang diperoleh dengan cara ekstraksi dengan etanol 70 % yang didapat dari pabrik pembuat obat tradisional PT Tradimun Gresik yang telah terstandarisasi.

Dosis ekstrak daun jambu biji yang dipakai yaitu 5,31 mg kuersetin per 50 kg BB manusia (Nasiruddin, 2005). Selanjutnya dikonversikan pada tikus dengan nilai konversi 0,025 untuk tikus dengan BB 200 g. Jadi dosis kuersetin untuk tikus

= $0,025 \times 5,31 \text{ mg} = 0,133 \text{ mg}$ kuersetin / 200 g BB tikus. Pada penelitian ini digunakan tiga macam dosis, yaitu: dosis 1 (0,067 mg kuersetin/200 g BB tikus), dosis 2 (0,133 mg kuersetin/200 g BB tikus) dan dosis 3 (0,266 mg kuersetin/200g BB tikus). Bahan uji yang dipakai diketahui memiliki kandungan senyawa kuersetin sebesar 2,46 % atau 2,46 mg kuersetin / 100 mg bulk ekstrak (ekstrak kering). Jadi dari data tersebut dapat dihitung dosis ekstrak daun jambu biji yang akan diberikan pada tikus adalah :

Dosis 1 = $(0,067/2,46) \times 100 \text{ mg} = 2,724 \text{ mg}$ ekstrak / 200 g BB tikus

Dosis 2 = $(0,133/2,46) \times 100 \text{ mg} = 5,407 \text{ mg}$ ekstrak / 200 g BB tikus

Dosis 3 = $(0,266/2,46) \times 100 \text{ mg} = 10,813 \text{ mg}$ ekstrak / 200 g BB tikus

Untuk membuat sediaan uji yang akan diberikan secara peroral pada tikus, ekstrak daun jambu biji dengan tiga macam dosis tersebut disuspensikan dalam CMC Na 0,5 % untuk mendapatkan larutan yang terdispersi secara homogen (Setyowati, 2004).

2. Latihan olahraga dengan beban 9 % dari berat badan tikus :

Latihan dilakukan dengan memberikan beban maksimum yang dikerjakan untuk waktu yang pendek dan diulang beberapa kali. Latihan olahraga dalam penelitian ini adalah latihan renang dengan menggunakan beban seberat 9 % dari berat badan tikus dan diikatkan pada ekor tikus (5 cm dari ujung ekor). Lamanya waktu renang adalah 80 % dari waktu berenang maksimal (Yunus, 2001, Hairrudin, 2005). Waktu renang maksimal adalah waktu tikus mulai berenang sampai tenggelam, diperoleh melalui penelitian pendahuluan. Tikus dimasukkan ke dalam air dan diusahakan supaya berenang, tikus dianggap tenggelam jika

dirangsang 3 kali secara mekanik (menekan pantatnya) tidak memberikan gerakan berenang atau dengan menghitung sampai 5 kali, kemudian diangkat dari air (Maslachah, 2001; Hairrudin, 2005). Renang dilakukan dalam 3 set, dengan rasio interval kerja dan interval istirahat 1 : 3 (Soekarman, 1987).

3. Kadar MDA plasma :

Kadar MDA plasma ditentukan dengan metode *Thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS). MDA bila direaksikan dengan asam tiobarbiturat (TBA) akan membentuk senyawa berwarna merah muda yang menyerap cahaya pada panjang gelombang 532 nm. Jumlah MDA yang terbentuk dapat menggambarkan proses peroksidasi lipid (Jusman, 2001). Kadar MDA dinyatakan dalam satuan nmol/ml.

4. Aktivitas SOD eritrosit:

Aktivitas SOD eritrosit ditentukan dengan tes Ransod menggunakan metode spektrofotometri, kolorimetri. Radikal superoksida bila direaksikan dengan *Nitroblue Tetrazolium* (NBT) akan membentuk formazan biru/ungu yang menyerap cahaya pada panjang gelombang 560 nm (Rukmini *et.al.*, 2004). Aktivitas SOD dilihat dengan mengukur derajat hambatan terhadap reaksi ini. Aktivitas SOD dinyatakan dalam satuan U/g Hb.

4.4. Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1. Bahan penelitian

4.4.1.1. Hewan uji

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar karena beberapa alasan antara lain mudah dikembangbiakkan dan mudah dipelihara di laboratorium, mudah diambil darahnya dan darah yang diambil cukup banyak, dan fisiologinya diperkirakan identik dengan manusia (Kusumawati, 2004). Jenis kelamin jantan dewasa yang berumur 2 – 3 bulan, berat badan 150 – 250 gram dengan kondisi sehat yang ditandai dengan keadaan umum baik dan berat badan normal dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

4.4.1.2. Ekstrak daun jambu biji

Ekstrak daun jambu biji diperoleh dengan cara ekstraksi dengan etanol 70 % yang didapat dari pabrik pembuat obat tradisional PT. Tradimun Gresik yang telah terstandarisasi.

4.4.1.3. Bahan untuk pemeriksaan

a. Pemeriksaan kadar MDA plasma

- Larutan 2-*Thiobarbituric acid* (TBA) 0,67 % (Merck)
- Larutan asam trikloroasetat (TCA) 10 % (Merck)
- Larutan 1,1,3,3-*Tetramethoxypropane amalonaldehyde bis (dimethyl acetal)* / MDA standart (Sigma)
- Larutan HCl 10 % (Merck)

b. Pemeriksaan aktivitas SOD eritrosit

- Kit SOD Ransot (PT.Randox)
- Na Cl 0,9 % (Merck)
- Larutan HCl 10 % (Merck)

4.4.2. Alat penelitian

4.4.2.1. Alat untuk pemberian CMC Na 0,5 % dan ekstrak daun jambu biji:

Spuit yang ujungnya dipasang suatu sonde yang dapat dimasukkan ke dalam mulut tikus wistar hingga mencapai *oesophagus*.

4.4.2.2. Alat penimbang BB hewan coba:

Neraca *Sartorius*

4.4.2.3. Alat untuk preparasi sediaan eritrosit:

Pisau bedah, meja operasi, gunting, pinset, spuit, kapas, botol, tabung reaksi, sentrifuge, *freezer*.

4.4.2.4. Alat untuk pemeriksaan kadar MDA dan aktivitas SOD:

Tabung reaksi, *ependorf tube*, *waterbath*, *microcentrifuge*, *vortex*, spektrofotometer, mikro pipet, rak tabung reaksi, alat homogenasi, termometer.

4.5. Prosedur Penelitian

4.5.1. Aklimatisasi:

Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari terhadap air, makanan dan hawa dalam kondisi laboratorium.

4.5.2. Perlakuan hewan coba:

- a. *Rattus norvegicus* dipilih secara random dan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.
- b. Kelompok kontrol, diberikan sonde Cmc Na 0,5 % selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum dilakukan latihan renang.
- c. Kelompok perlakuan 1 : diberikan ekstrak daun jambu biji per oral dosis 2,724 mg/200 g BB tikus selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum dilakukan latihan renang.
- d. Kelompok perlakuan 2 : diberikan ekstrak daun jambu biji per oral dosis 5,407 mg/200 g BB tikus selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum dilakukan latihan renang.
- e. Kelompok perlakuan 3 : diberikan ekstrak daun jambu biji per oral dosis 10,813 mg/200 g BB tikus selama 6 hari, diberikan 3 jam sebelum dilakukan latihan renang.

4.5.3. Pengambilan sampel:

Pada hari terakhir segera setelah mendapat perlakuan, seluruh hewan coba dianestesi dengan eter secara inhalasi dan dilakukan pembedahan serta diambil darahnya melalui ventrikel jantung menggunakan spuit 5 ml yang sudah diberi Na sitrat, dan dimasukkan botol yang berisi EDTA 10 % sebagai antikoagulan. Kemudian darah diambil 1 ml untuk pemeriksaan kadar MDA plasma dan 1 ml untuk pemeriksaan aktivitas SOD eritrosit.

4.6. Lokasi dan Jadwal Penelitian

4.6.1. Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.6.2. Jadwal penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 10 bulan, mulai bulan Januari 2007 sampai dengan Oktober 2007, Jadwal penelitian dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.6.2. Jadwal Penelitian

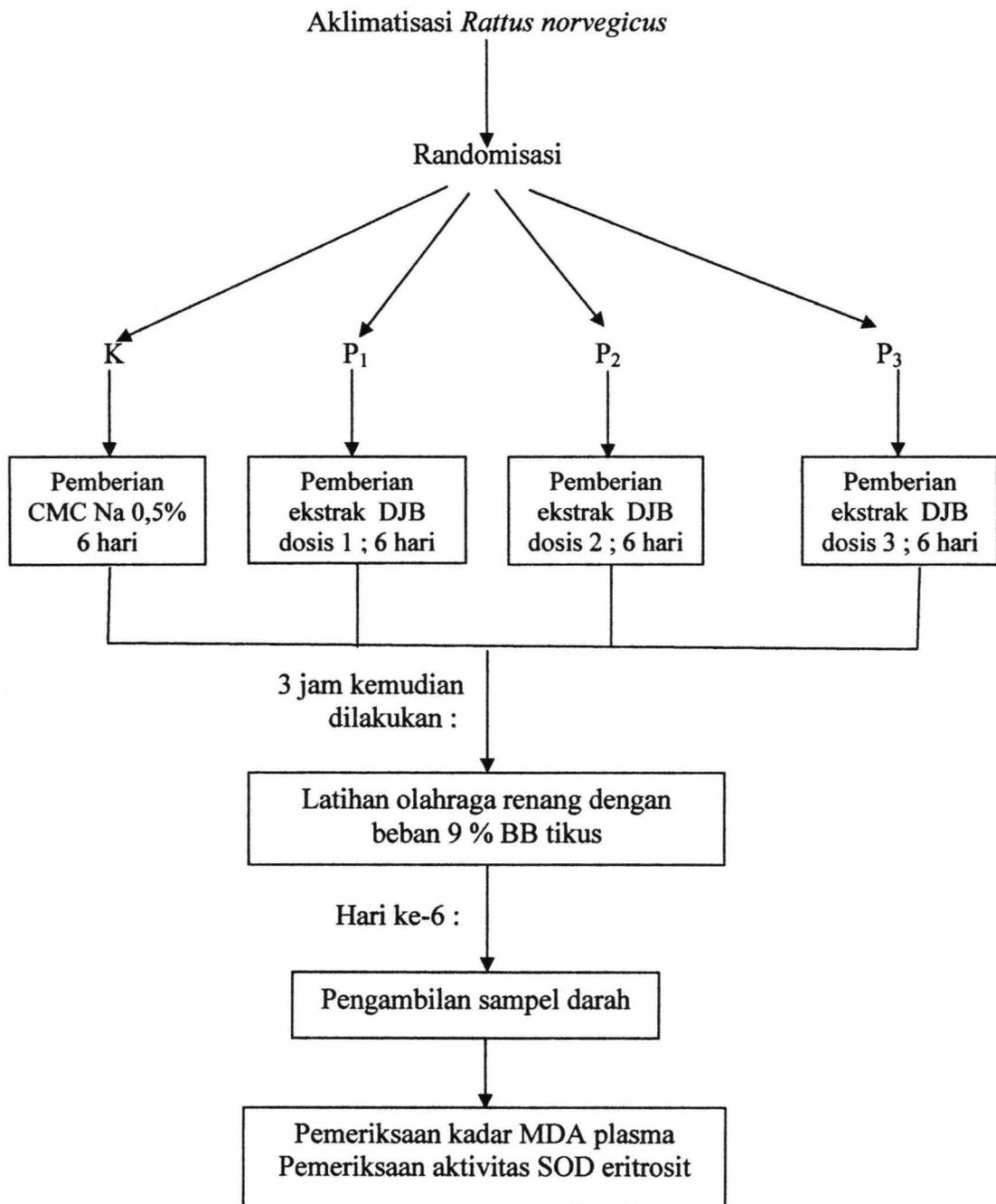
Bulan ke- Kegiatan	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Studi Pustaka	XXX	XXX	XXX							
Penyusunan proposal			XXX	XXX	XXX	XXX				
Penelitian Pendahuluan						XXX	XXX			
Perlakuan							XXX	XXX		
Pengumpulan data								XXX	XXX	
Analisis data								XXX	XXX	
Pembuatan laporan								XXX	XXX	XXX

4.7. Analisis Data

Data yang didapat dari pemeriksaan kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* dianalisis dengan uji *Analisis of varians* (Anova)

dan *Multivariate analysis of varians* (Manova). Tingkat kemaknaan 5 %, jika terdapat perbedaan diantara kelompok perlakuan, dilanjutkan dengan uji LSD.

4.8. Kerangka Operasional Penelitian



BAB V**ANALISIS HASIL PENELITIAN**

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan pada penelitian ini adalah kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit. Kemudian dideskripsikan dan diuji menggunakan Anova (F) dan Manova (Wilks'Lambda) dengan taraf signifikansi 5 % dan diolah dengan program SPSS versi 13.

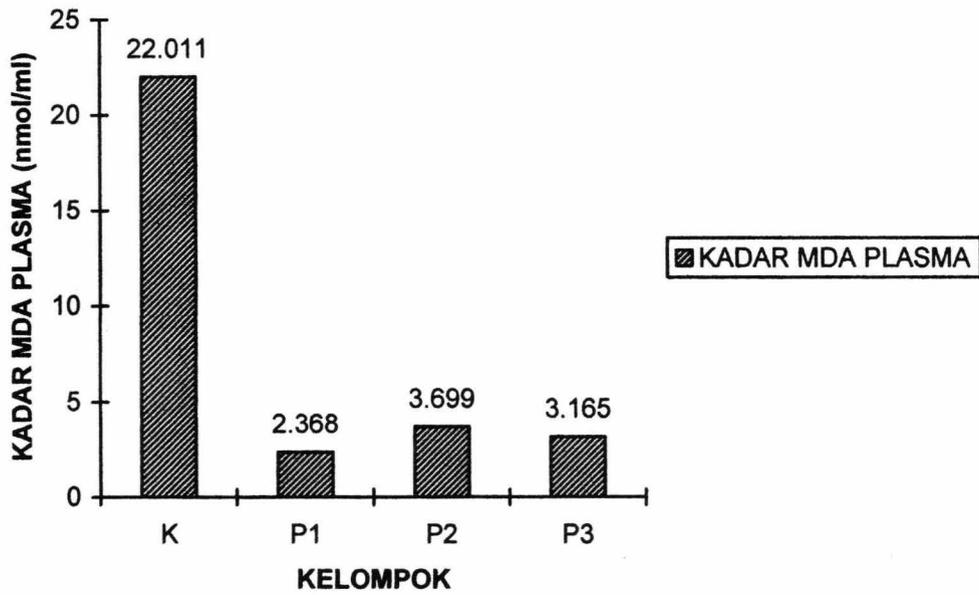
5.1. Hasil uji statistik

Data penelitian meliputi rerata kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit, data dianalisis secara statistik untuk memperoleh gambaran distribusi peringkasan data dan untuk menyajikan hasil penelitian pada semua kelompok. Gambaran distribusi rerata dan simpangan baku (standar deviasi) kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit dapat dilihat pada tabel 5.1. di bawah ini.

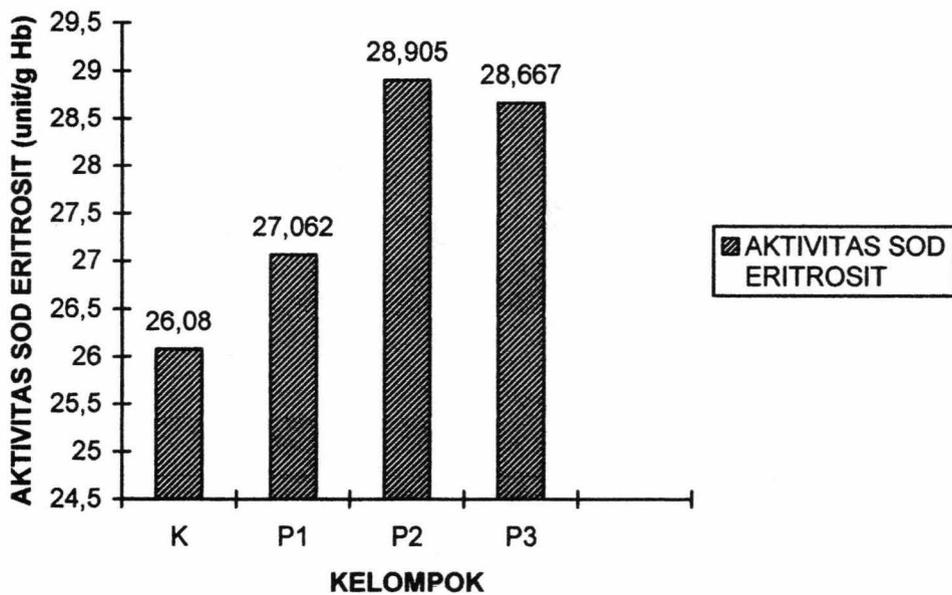
Tabel 5.1. Rerata dan simpangan baku (standar deviasi) kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit.

Variabel Tergantung	Kelompok			
	K	P ₁	P ₂	P ₃
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
MDA plasma (nmol/ml)	22,011 ± 11,707	2,368* ± 0,343	3,699* ± 0,186	3,165* ± 0,527
SOD eritrosit (unit/g Hb)	26,080 ± 2,387	27,062 ± 0,667	28,905* ± 0,777	28,667* ± 0,817

* = ada perbedaan yang bermakna



Grafik 5.1a. Rerata kadar MDA plasma pada keempat kelompok



Grafik 5.1b. Rerata aktivitas SOD eritrosit pada keempat kelompok

- Keterangan: K = Kelompok kontrol diberikan latihan olahraga renang dengan beban 9 % dari berat badan tikus
- P₁ = Kelompok latihan olahraga renang dan ekstrak daun jambu biji dosis 2,724 mg/200 g BB tikus
- P₂ = Kelompok latihan olahraga renang dan ekstrak daun jambu biji dosis 5,407 mg/200 g BB tikus
- P₃ = Kelompok latihan olahraga renang dan ekstrak daun jambu biji dosis 10,813 mg/200 g BB tikus.

Dari tabel 5.1. dapat diketahui bahwa pada semua kelompok perlakuan dengan latihan renang dan pemberian ekstrak daun jambu biji (P₁, P₂ dan P₃) terdapat penurunan kadar MDA plasma dan peningkatan aktivitas SOD eritrosit dibanding dengan kelompok kontrol yang hanya diberikan latihan renang saja tanpa pemberian ekstrak daun jambu biji. Rerata kadar MDA plasma kelompok P₁ (dosis 2,724 mg/200 g BB tikus) diperoleh $2,368 \pm 0,343$, P₂ (dosis 5,407 mg/200g BB tikus) = $3,699 \pm 0,186$, dan P₃ (dosis 10,813 mg/200 g BB tikus) = $3,165 \pm 0,527$, lebih menurun dibanding kelompok kontrol dengan latihan renang saja ($22,011 \pm 11,707$).

Rerata aktivitas SOD eritrosit pada kelompok P₁ (dosis 2,724 mg/200g BB tikus) diperoleh $27,062 \pm 0,667$, P₂ (dosis 5,407 mg/200 g BB tikus) = $28,905 \pm 0,777$, dan P₃ (dosis 10,813 mg/200 g BB tikus) = $28,667 \pm 0,817$, lebih meningkat dibanding kelompok kontrol dengan latihan renang saja ($26,080 \pm 2,387$).

5.2. Hasil uji normalitas

Sebelum data hasil penelitian dianalisis dengan uji F, data diuji terlebih dahulu normalitas distribusinya dengan uji Kolmogorov-Smirnov seperti pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.2. Hasil uji normalitas dengan uji Kolmogorov-Smirnov

Variabel		K-S Z	Sig.(2-tailed)
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	Kontrol	0,842	0,477*
	P ₁ (dosis 1)	0,511	0,957*
	P ₂ (dosis 2)	0,708	0,698*
	P ₃ (dosis 3)	0,736	0,650*
Aktivitas SOD Eritrosit (unit/g Hb)	Kontrol	0,423	0,994*
	P ₁ (dosis 1)	0,625	0,829*
	P ₂ (dosis 2)	0,742	0,640*
	P ₃ (dosis 3)	0,279	1,000*

* = berdistribusi normal

Dari tabel 5.2. dapat diketahui bahwa nilai signifikansi kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit pada keempat kelompok sampel lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) yang berarti datanya berdistribusi normal dan memenuhi syarat untuk dilakukan uji F.

5.3. Hasil uji homogenitas

Tabel 5.3. Hasil uji homogenitas dengan uji Lavene

Variabel	Levene Statistic	Sig.
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	5,812	0,007
Aktivitas SOD Eritrosit (unit/g Hb)	3,921	0,028

Uji homogenitas data sampel sebagai syarat lain uji F dilakukan dengan uji Lavene, diperoleh data seperti pada tabel 5.3. maka dapat diketahui bahwa nilai signifikansi kadar MDA plasma $p = 0,007$ ($p < 0,05$), berarti mempunyai varians yang tidak homogen untuk tiap-tiap kelompok sampel. Nilai signifikansi aktivitas SOD eritrosit $p = 0,028$ ($p < 0,05$), memiliki varians yang tidak homogen.

5.4. Hasil uji F

Tabel 5.4. Hasil uji F

Variabel	Hasil uji	
	F	Sig.
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	F = 17,892	0,000*
Aktivitas SOD Eritrosit (unit/g Hb)	F = 4,868	0,014*

* = ada perbedaan yang bermakna

Uji F dilakukan untuk mengetahui ada/tidaknya perbedaan efek antara kelompok perlakuan. Nilai signifikansi kadar MDA plasma dengan uji F diperoleh $p = 0,000$ atau $p < 0,05$ yang artinya Hipotesis nol (H_0) ditolak, atau ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan. Sedangkan nilai signifikansi aktivitas SOD eritrosit dengan uji F diperoleh $p = 0,014$ atau $p < 0,05$, yang artinya Hipotesis nol (H_0) ditolak, atau ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan.

5.5. Hasil uji Wilks' Lambda

Tabel 5.5. Hasil uji Wilks' Lambda

	Nilai	F	Sig.
Wilks' Lambda	0,168	7,193	0,000*

* = ada perbedaan yang bermakna

Uji Wilks' Lambda digunakan untuk mengetahui perbedaan kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit pada masing-masing kelompok perlakuan secara bersama-sama. Hasil analisis uji multivariat seperti pada tabel 5.5. diperoleh nilai signifikansi $p = 0,000$ atau $p < 0,05$, yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan pada salah satu atau kedua variabel (kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit). Selanjutnya dilakukan uji LSD untuk mengetahui antara kelompok mana yang terdapat perbedaan.

5.6. Hasil uji LSD

Tabel 5.6. Hasil uji LSD

Variabel	Perbandingan antar kelompok sampel		Sig.
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	K (Kontrol)	P ₁ (dosis 1)	0,000*
		P ₂ (dosis 2)	0,000*
		P ₃ (dosis 3)	0,000*
	P ₁ (dosis 1)	P ₂ (dosis 2)	0,724
		P ₃ (dosis 3)	0,833
	P ₂ (dosis 2)	P ₃ (dosis 3)	0,887
Aktivitas SOD Eritrosit (unit/g Hb)	K (Kontrol)	P ₁ (dosis 1)	0,271
		P ₂ (dosis 2)	0,005*
		P ₃ (dosis 3)	0,008*
	P ₁ (dosis 1)	P ₂ (dosis 2)	0,048*
		P ₃ (dosis 3)	0,081
	P ₂ (dosis 2)	P ₃ (dosis 3)	0,786

* = ada perbedaan yang bermakna

Uji LSD digunakan untuk mengetahui antara kelompok mana yang memiliki perbedaan diantara kedua variabel. Berdasarkan tabel 5.6. ditunjukkan bahwa nilai signifikansi kadar MDA plasma antara kelompok K (Kontrol) dengan P₁ (dosis 2,724 mg/200 g BB tikus), P₂ (dosis 5,407 mg/200 g BB tikus) dan P₃ (dosis 10,813 mg/200 g BB tikus) didapat $p = 0,000$ atau $p < 0,05$ yang berarti

ada perbedaan yang bermakna di antara kelompok tersebut. Sedangkan nilai signifikansi aktivitas SOD eritrosit antara kelompok kontrol (K) dan P₁ (dosis 2,724 mg/200 g BB tikus) tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0,271$) atau $p > 0,05$. Nilai signifikansi antara kelompok K (Kontrol) dengan P₂ (dosis 5,407 mg/200 g BB tikus) $p = 0,005$, dan K (Kontrol) dengan P₃ (dosis 10,813 mg/200 g BB tikus) terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0,008$) atau $p < 0,05$. Antara kelompok dosis 1 dan dosis 2, dosis 1 dan dosis 3, dosis 2 dan dosis 3 tidak terdapat perbedaan yang bermakna kadar MDA plasma dengan nilai signifikansi $p = 0,724$, $0,833$ dan $0,887$ atau $p > 0,05$. Dari hasil uji LSD ini dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji tiga jam sebelum latihan renang selama enam hari ternyata dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasma secara bermakna pada ketiga kelompok dosis ekstrak daun jambu biji yaitu pada dosis 1 (2,724 mg/200g BB tikus), dosis 2 (5,407 mg/200 g BB tikus) dan dosis 3 (10,813 mg/200 g BB tikus). Sedangkan perbedaan dosis ekstrak daun jambu biji pada ketiga kelompok dosis tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam mencegah peningkatan kadar MDA plasma.

Pada pemberian ekstrak daun jambu biji dosis 1 (2,724 mg/200g BB tikus) aktivitas SOD meningkat tapi tidak bermakna nilai signifikansi $p = 0,271$ atau $p > 0,05$, sedangkan dengan pemberian dosis 2 (5,407 mg/200 g BB tikus) dan dosis 3 (10,813 mg/200 g BB tikus) aktivitas SOD meningkat secara bermakna ($p = 0,005$ dan $p = 0,008$) atau $p < 0,05$. Antara kelompok dosis 1 dan dosis 2 terdapat perbedaan aktivitas SOD secara bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,048$ ($p < 0,05$). Antara kelompok dosis 1 dan dosis 3, dosis 2 dan dosis 3 tidak

ada perbedaan aktivitas SOD secara bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,081$ dan $p = 0,786$ atau $p > 0,05$. Dari hasil uji LSD ini dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji tiga jam sebelum latihan renang selama enam hari ternyata dapat mencegah penurunan aktivitas SOD eritrosit secara bermakna dengan dosis 2 (5,407 mg/200 g BB tikus) dan dosis 3 (10,813 mg/200 g BB tikus). Perbedaan dosis ekstrak daun jambu biji menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok dosis 1 dan dosis 2, sedangkan antara kelompok dosis 1 dan dosis 3, kelompok dosis 2 dan dosis 3 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam mencegah penurunan aktivitas SOD eritrosit.

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji terhadap kadar MDA plasma darah dan aktivitas SOD eritrosit akibat latihan olahraga renang dengan beban 9 % dari berat badan tikus. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Pada satu kelompok diberikan intervensi (perlakuan/*treatment*), sedangkan kelompok yang lain tidak diberikan intervensi (perlakuan/*treatment*). Kemudian dibandingkan efek yang terjadi antara kelompok yang tidak dikenai intervensi (kontrol) dan yang telah dikenai intervensi (uji).

Pada penelitian ini terdapat empat kelompok (kelompok 1, 2, 3 dan 4). Kelompok 1 adalah kontrol dengan diberikan latihan renang saja tanpa ekstrak daun jambu biji. Kelompok 2, 3 dan 4 diberikan latihan renang dan ekstrak daun jambu biji dengan dosis yang berbeda. Kelompok 2 dosis 1 (2,724 mg/200 g BB tikus), kelompok 3 dosis 2 (5,407 mg/200 g BB tikus) dan kelompok 4 dosis 3 (10,813 mg/200 g BB tikus). Pada setiap subyek dari kelompok dilakukan *follow up* selama 6 hari. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the randomize post test only control group design* dengan pengukuran satu kali setelah perlakuan (*post test*). Pada keempat kelompok dilakukan pemeriksaan kadar MDA plasma darah dan aktivitas SOD eritrosit pada hari terakhir (ke-enam).

Pemilihan rancangan penelitian ini didasarkan karena mudah dilaksanakan, dapat diuji secara statistik dan merupakan salah satu metode

penelitian yang dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian suatu *treatment* terhadap hasil/akibat *treatment*.

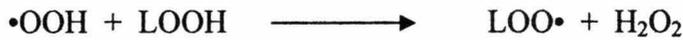
6.1. Analisis Kadar MDA Plasma

Pada penelitian ini yang diukur adalah kadar MDA (*malondialdehyde*) plasma darah sebagai produk terjadinya peroksidasi lemak membran sel akibat aktivitas radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung, oleh karena yang diukur adalah produk hasil kerja radikal bebas bukan senyawa radikal bebasnya secara langsung.

Jumlah radikal bebas dapat meningkat dalam tubuh pada berbagai keadaan, pada penelitian ini sebagai stressor terbentuknya radikal bebas adalah latihan renang dengan beban 9 % dari berat badan, diberikan dengan intensitas 80 % dari kemampuan maksimal yang menghasilkan keadaan anaerobik atau olahraga dengan sumber energinya dominan dari metabolisme anaerobik, efek dari latihan ini terbukti dapat meningkatkan kadar MDA plasma (Hairuddin, 2005; Yunus, 2001). Radikal bebas utama yang memicu terjadinya reaksi berantai peroksidasi lemak membran sel adalah radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$). Semakin berat intensitas latihan maka semakin banyak radikal bebas yang terbentuk, sehingga jumlah produk toksik dari peroksidasi lemak terutama senyawa aldehid MDA akan meningkat (Patellongi, 2005).

Asam laktat yang terbentuk pada latihan ini juga dapat membentuk radikal bebas. Ion hidrogen (proton) yang dilepaskannya akan bereaksi dengan radikal superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$) membentuk radikal hidroperoksil ($\bullet\text{OOH}$) yang lebih reaktif.

Radikal hidroperoksil ($\bullet\text{OOH}$) dapat memicu terjadinya peroksidasi lemak sebagai berikut (Halliwell, Gutteridge, 1999):



Proton juga mengkatalisis reaksi Haber-Weiss dan menghasilkan radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) yang paling reaktif (Marks *et.al.*, 2000).

Pemberian ekstrak daun jambu biji dilakukan selama 6 hari oleh karena bahan aktif utama ekstrak daun jambu biji yaitu flavonoid-kuersetin dapat memberikan efek yang nyata setelah diberikan 6 hari (Moo, 2004). Pemberian ekstrak dilakukan 3 jam sebelum latihan, karena bahan aktif flavonoid-kuersetin memerlukan waktu sekitar 3 jam untuk mencapai kadar puncak dalam plasma (Middleton *et.al.*, 2000). Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-enam, dilakukan dengan aspirasi langsung melalui ventrikel jantung agar diperoleh jumlah darah yang cukup. Pengambilannya dilakukan 30 menit setelah latihan karena dasar pertimbangan bahwa kadar MDA dalam plasma sudah nampak dan aktivitas SOD eritrosit tidak terlalu menurun. Dari hasil penelitian ini didapat data bahwa kadar MDA plasma antara kelompok perlakuan terdapat penurunan secara bermakna ($p = 0,000$ atau $p < 0,05$) pada kelompok 2, 3, dan 4 ($P_1 = 2,368 \pm 0,343$, $P_2 = 3,699 \pm 0,1869$, dan $P_3 = 3,165 \pm 0,527$) dibandingkan kelompok kontrol dengan latihan renang saja ($K = 22,011 \pm 11,707$). Sedangkan antar kelompok dosis (P_1 , P_2 dan P_3) tidak ada perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,724$, $0,833$ dan $0,887$ atau $p > 0,05$.

Data ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji pada ketiga kelompok dosis selama 6 hari menunjukkan efek pencegahan terhadap

peningkatan kadar MDA plasma akibat latihan renang. Sedangkan perbedaan dosis ekstrak daun jambu biji tidak menghasilkan perbedaan yang bermakna dalam menghambat penurunan kadar MDA plasma.

Ini sesuai dengan peneliti Legowo yang membuktikan bahwa pemberian senyawa flavonoid dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasma darah tikus akibat stress oksidatif (Legowo, 2005). Middleton mengungkapkan bahwa flavonoid dapat meredam radikal bebas hidroksil ($\bullet\text{OH}$) sebagai inisiator terjadinya reaksi berantai peroksidasi lemak membran sel yang produk akhirnya adalah MDA, sehingga senyawa flavonoid-kuersetin dapat mencegah awal mula terjadinya reaksi berantai peroksidasi lemak membran sel yang dipicu oleh radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) (Middleton *et.al.*, 2000).

Nijveldt (2001) menerangkan bahwa senyawa flavonoid dapat meredam radikal bebas secara langsung dengan cara flavonoid (FL-OH) dioksidasi oleh radikal bebas ($\text{R}\bullet$) menjadi bentuk yang lebih stabil dan kurang reaktif (FL-O \bullet), reaksinya sebagai berikut (Nijveldt *et.al.*, 2001) :



Middleton (2000) menjelaskan lebih lanjut bahwa bila terjadi reaksi berantai peroksidasi lemak, senyawa antioksidan flavonoid-kuersetin ini mampu memutus reaksi berantai ini pada tahap propagasi sebagai berikut:



selanjutnya radikal flavonoid (FL-O \bullet) berinteraksi dengan asam askorbat (Vitamin C) membentuk senyawa flavonoid kembali. Dengan demikian reaksi berantai peroksidasi lemak membran akan berhenti dan tidak akan menghasilkan produk

akhir yang toksik seperti MDA, sehingga jumlah kadar MDA dalam darah pun akan menurun. Teori ini menjelaskan bahwa senyawa flavonoid kuersetin yang terkandung dalam ekstrak daun jamu biji dapat menghambat peningkatan kadar MDA dalam darah akibat stress oksidatif (Middleton *et.al.*, 2000).

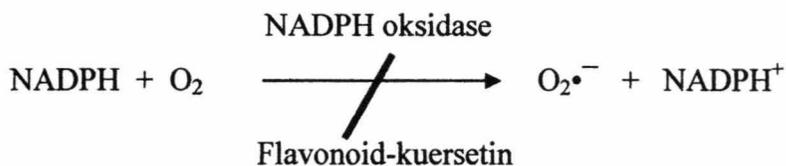
6.2. Analisis Aktivitas SOD Eritrosit

Pengukuran aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) pada penelitian ini adalah dengan mengukur kadarnya dalam eritrosit, kadar enzim berbanding lurus dengan aktivitasnya. Aktivitas katalisis yang dimiliki enzim dapat menjadi sarana pemeriksaan yang sensitif dan spesifik bagi pengukuran kadar enzim itu sendiri (Murray *et.al.*, 2000). Enzim SOD merupakan salah satu antioksidan pencegah utama yang dimiliki tubuh, yang bekerja pada pertahanan pertama terhadap serangan radikal bebas terutama radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$). Aktivitas enzim ini dapat menurun pada berbagai kondisi, salah satunya adalah akibat latihan olahraga.

Latihan renang dengan beban 9 % dari berat badan, dengan intensitas 80 % dari kemampuan maksimal terbukti dapat menyebabkan penurunan aktivitas dari SOD eritrosit (Hairuddin, 2005; Patellongi, 2005). Radikal bebas pertama yang terbentuk pada saat olahraga adalah radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$). Enzim SOD berperan menetralkan radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$). Bila jumlah radikal $O_2^{\cdot-}$ melebihi kapasitas enzim SOD untuk meredamnya maka dapat menyebabkan destruksi protein enzim SOD karena ROS dapat menyebabkan denaturasi protein enzim. Kerusakan enzim ini dapat menyebabkan penurunan kadarnya sehingga aktivitasnya pun ikut menurun (Aslan *et.al.*, 1998).

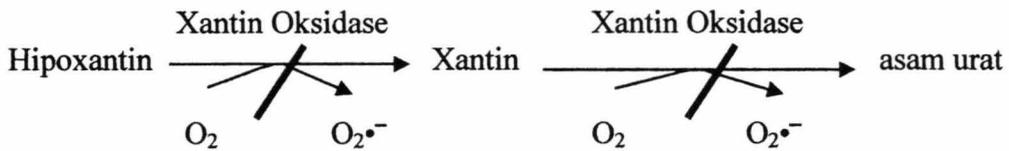
Pada penelitian ini diperoleh hasil aktivitas SOD eritrosit mengalami peningkatan pada kelompok perlakuan ($P_1 = 27,062 \pm 0,667$, $P_2 = 28,905 \pm 0,777$, $P_3 = 28,667 \pm 0,817$) dibandingkan kelompok kontrol (K) dengan latihan renang saja ($26,080 \pm 2,387$). Pemberian ekstrak daun jambu biji dengan dosis 1 ($2,724$ mg/200 g BB tikus) menyebabkan aktivitas SOD meningkat dibandingkan kelompok kontrol yang diberikan latihan renang saja tanpa ekstrak daun jambu biji, tetapi peningkatan ini tidak bermakna ($p = 0,271$) atau $p > 0,05$. Peningkatan secara bermakna diperoleh pada kelompok P_2 (dosis $5,407$ mg/200 g BB tikus) $p = 0,005$ dan P_3 (dosis $10,813$ mg/200 g BB tikus) $p = 0,008$ atau $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji dengan dosis 2 ($5,407$ mg/200 g BB tikus) dan dosis 3 ($10,813$ mg/200 g BB tikus) selama 6 hari memberikan efek pencegahan terhadap penurunan aktivitas SOD eritrosit akibat latihan olahraga. Perbedaan dosis ekstrak daun jambu biji menunjukkan peningkatan secara bermakna antara kelompok dosis 1 dan dosis 2, sedangkan antara kelompok dosis 1 dan dosis 3, dosis 2 dan dosis 3 tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak daun jambu biji yang paling efektif dalam menghambat penurunan aktivitas SOD eritrosit adalah dosis 2 ($5,407$ mg/200 g BB). Ini juga menjelaskan bahwa senyawa aktif flavonoid-kuersetin mampu membantu kerja enzim SOD dengan menetralkan radikal $O_2^{\bullet-}$, sehingga destruksi protein enzim SOD akibat terlalu sering berinteraksi dengan radikal bebas dapat dihindari, maka penurunan aktivitasnya pun dapat dihambat atau dengan kata lain aktivitas SOD menjadi lebih meningkat.

Hal ini sesuai dengan penelitian Molina (2003) dan Coşkun (2004) yang membuktikan bahwa pemberian flavonoid kuersetin dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD yang menurun akibat pengaruh radikal bebas (Molina *et.al.* 2003; Coşkun *et.al.*, 2004). Ini juga sesuai dengan yang diungkapkan oleh Zielińska dan Middleton bahwa flavonoid-kuersetin mampu meredam radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim antioksidan dan mencegah destruksi enzim antioksidan tersebut (enzim SOD) akibat radikal bebas yang berlebihan. Diterangkan pula bahwa flavonoid-kuersetin dapat menghambat pembentukan radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) di dalam sel dengan cara menghambat aktivitas enzim NADPH oksidase yang mengkatalisis pembentukan radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dari oksigen (O_2), reaksinya digambarkan sebagai berikut (Zielińska *et.al.*, 2001; Middleton *et.al.*, 2000):



Mekanisme lain diungkapkan oleh Nijveldt (2001), Tanjung (2005), Lakhanpal (2007) dan Saraf (2007), yang menerangkan bahwa flavonoid kuersetin dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase dan enzim xantin dehidrogenase yang pada keadaan ischemia dapat berubah menjadi xantin oksidase. Aktivitas xantin oksidase membentuk asam urat akan menghasilkan produk sampingan radikal bebas superoksida ($O_2^{\bullet-}$), dengan dihambatnya aktivitas enzim ini maka akan mengurangi jumlah radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dalam sel,

reaksinya digambarkan sebagai berikut (Nijveldt *et.al.*, 2001; Tanjung, 2005; Lakhanpal *et.al.*, 2007; Saraf *et.al.*, 2007):



Keterangan :

— = Flavonoid kuersetin

Dengan beberapa mekanisme kerja senyawa flavonoid-kuersetin ini maka penumpukan radikal superoksida ($\text{O}_2\bullet^-$) intraseluler baik yang berasal dari sistem enzimatik maupun non enzimatik dapat dicegah, sehingga penurunan aktivitas enzim SOD akibat radikal bebas pun dapat dihambat. Teori ini menjelaskan bahwa senyawa flavonoid kuersetin yang terkandung dalam ekstrak daun jambu biji dapat menghambat penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit akibat stress oksidatif.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak daun jambu biji dapat menghambat peningkatan kadar MDA plasma *Rattus norvegicus* akibat latihan olahraga.
2. Pemberian ekstrak daun jambu biji dapat menghambat penurunan aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* akibat latihan olahraga.

7.2. Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji terhadap kadar MDA otot setelah latihan olahraga.
2. Perlu penelitian untuk mempelajari farmakokinetik, toksisitas dan efek samping ekstrak daun jambu biji.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed R.G., 2005. Is there a balance between oxidative stress and antioxidant defense system during development?, *Medical journal of Islamic world academy of sciences* 15:2, 55-63.
- Amin M., 1996. Penyakit Paru Obstruktif Menahun: Polusi Udara, Rokok dan Alfa-1-Antitripsin, Airlangga University Press, hal: 23-28.
- Arifiyanto, I., 2001. Efek pemberian kombinasi klorokuin dan asam askorbat terhadap aktivitas radikal bebas dalam sel darah mencit BALB/C yang diinfeksi Plasmodium Berghei, tugas akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.
- Aslan R., Şekeroğlu M.R., Tarakçıoğlu M., Bayiroğlu F., Meral I., 1998. Effect of Acute and Regular Exercise on Antioxidative Enzymes, Tissue Damage Markers and Membran Lipid Peroxidation of Erythrocytes in Sedentary Students, *Tr.J.of Medical Sciences* 28: 411-414.
- Bonilla J.F., Narváez R., Chuaire L., 2005. Sports as a Cause of Oxidative Stress and Hemolysis, *Colomb Med*; 36: 281-286.
- Conservation International Indonesia (CII), 2006. Bioteknologi Berbasis Kekayaan Hayati, 2 Desember, hal: opini.
- Coşkun Ö., Kanter M., Armutçu F., Çetin K., Kaybolmaz B., Yazgan Ö., 2004. Protective effects of Quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanol-induced acut gastric ulcer, *Karaelmas University, Faculty of Medicine, Departments of Medical Histology-Embryology and Biochemistry, Turkey, Eur J Gen Med* 2004; 1(3): 37 – 42.
- Depkes RI, 1977. *Materia Medika Indonesia*, Jilid I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal: 90-94.
- Depkes RI, 1995. *Farmakope Indonesia*, ed. IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal: 7.
- Dweck A.C., 2005. A Review of Guava (*Psidium guajava*), Dweck Data.
- Fadillioglu E., Kaya B., Uz E., Emre M.H., Ünal S., 2000. Effects of Moderate Exercise on Mild Depressive Mood, Antioxidants and Lipid Peroxidation, *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, Vol: 10, No.4: 194-200.

- Fox E.L., Bowers R.W., Foss M.L., 1993. *The Physiological Basis for Exercise and Sport*, 5^{ed}, WCB Brown & Benchmark, Madison, Wisconsin, Dubuque, Iowa, hal: 13-38, 288-295.
- Ghosh, M.N., 1971, *Fundamentals of Experimental Pharmacology*, Scientific Book Agency, Calcutta.
- Hairrudin, 2005. Pengaruh pemberian ekstrak jinten hitam dalam mencegah stress oksidatif akibat latihan olahraga anaerobik pada tikus putih, Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya, hal: 39-47.
- Halliwell B. dan Gutteridge J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3^{ed}, Oxford University Press, New York, hal: 1-100, 225-231, 284-304.
- Hariyono, 2001. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Jumlah Eritrosit dan Nilai Hematokrit Darah Tikus yang Mendapat Latihan Anaerobik, Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya, hal: 13-19.
- Harjanto, 2003. Petanda Biologis dan Faktor yang Mempengaruhi Derajat Stress Oksidatif pada Latihan Olah Raga Aerobik Sesaat, Disertasi, Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya, hal: 37.
- Hartadi D., Sumardi, Isnanto R.R., 2004. Simulasi Penghitungan Jumlah Sel Darah Merah, *Transmisi*, Vol.8 No.2 Desember, UNDIP, hal: 1-6.
- He Q dan Venant N, 2004. Antioxidant Power of Phytochemicals from Psidium Guajava Leaf, Department of Science and Technology, Functional Foods Research Center of Ministry of Educations, Southern Yangtze University, *Journal of Zhejiang University SCIENCE* 5(6):676-683.
- Ji L.L., 1999. Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise, Department of Kinesiology, Interdepartmental Program of Nutritional Science, and Institute on Aging, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, P.S.E.B.M., Vol 222.
- Jusman S.W.A., 2001. Oksidasi biologi dan antioksidan, dalam buku *Biokimia Eksperimen Laboratorium*, Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Widya Medika, hal: 148-154.
- Katno dan Pramono S, 2006. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Badan Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, Fakultas Farmasi, UGM.
- Karou D., Dicko M.H., Simpore J., Traore A.S., 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina faso, *African journal of biotechnology* vol 4 (8), pp.823-828, Agustus.

- Kelle M., Diken H., Şermet A., Atmaca M., Tümer C., 1999. Effect of Exercise on Blood Antioxidant Status and Erythrocyte Lipid Peroxidation: Role of Dietary Supplementation of Vitamin E, *Tr.J.of Medical Sciences* 29: 95-100.
- Kusumawati D., 2004. *Bersahabat dengan hewan coba*, Gajah Mada University Press, cetakan pertama, Yogyakarta, hal: 66 -78.
- Lakhanpal P., Rai D.K., 2007. Quercetin: a versatile flavonoid, Reader, Department of Pharmacology, SSR Medical College; SMHO, Department of Pediatrics, Flacq Hospital, Ministry of Health & Quality of Life, Mauritius, *Internet Journal of Medical* Jul-Dec;2(2), http://www.geocities.com/agnihotrimed/paper05_jul-dec2007.htm
- Legowo D., 2005. Potensi atheroprotektif antioksidan isoflavonoid pada tikus putih jantan yang diberi stressor, *Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya*.
- Lopez M., Martinez F., Valle C.D., Ferrit M., Luque R., 2003. Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants by a Fluorescence Method, Department of Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Granada, 18071 Granada, Spain, *Talanta* 60: 609 – 616.
- Machefer G., Groussard C., Bekono F.R., Zouhal H., Faure H., Vincent S., Cillard J., Delamarche AG., 2004. Extreme Running Competition Decreases Blood Antioxidant Defense Capacity, *Journal of the American College of Nutrition*, Vol.23, No.4, 358-364.
- Mardisiswojo S. dan Rajakmangunsudarso H., 1985. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*, Balai Pustaka, Jakarta, hal: 86-87.
- Marks D.B., Marks A.D., Smith C.M., 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinis*, Cet.1, Penerbit Buku kedokteran EGC, hal: 305-313, 321- 333.
- Maslachah, 2001. Pengaruh antioksidan probucol terhadap kadar malondialdehida dalam darah dan jumlah “circulating endothel” pada tikus putih yang menerima stressor, *Tesis, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya*.
- Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C., 2000. The Effects of Plants Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *The Americans Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, Pharmacol Rev* 52: 673-751.
- Moeloek D., 1984. *Dasar Fisiologi Kesegaran Jasmani dan Latihan Fisik*. Dalam buku *Simposium Kesehatan dan Olahraga*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal: 1-15.

- Molina M.F., Reus I.S., Iglesias I., Benedi J., 2003. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse liver, *Biol.Pharm.Bull.* 26 (10): 1398 – 1402, Pharmaceutical Society of Japan.
- Moo D.R., 2004. Uji aktivitas ekstrak etanol 70 % daun jambu biji (*Psidium guajava* l.) terhadap kadar TNF- α dalam serum tikus, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Morand C., Crespy V., Manach C., Besson C., Demigné C., Rémésy C., 1998. Plasma Metabolites of Quercetin and Their Antioxidant Properties, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 275: R212-R219.
- Mun'im A., Andrajati R., Susilowati H., 2006. Uji hambatan tumorigenesis sari buah merah (*Pandanus conoideus lam.*) terhadap tikus putih betina yang diinduksi 7,12 dimetilbenz(a) antrasen (DMBA), Departemen Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Indonesia, Jakarta, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, VOL.III, No.3, Des.
- Murniati E., 2006. Jambu biji Tanaman Idola, Cet.1, Penerbit SIC, Surabaya, hal: 5-24.
- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W., 2003. *Biokimia Harper*, edisi 25, Cet.1, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal 727-732.
- Nasiruddin M., 2005. Pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji terhadap peningkatan jumlah trombosit kasus demam berdarah dengue pada anak, *Lab/SMF Ilmu Kesehatan Anak*, Fakultas Kedokteran, Unair/RSU Dr.Soetomo, Surabaya.
- Nijveldt R.J., Nood E.V., Hoorn DECV., Boelens P.G., Norren K.V., Leeuwen PAMV., 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *American Society for Clinical Nutrition*, *Am J Clin Nutr* 74: 418-25.
- Niwa Y., 1997. Radikal bebas mengundang kematian, *Personal care CO.,LTD.*, 3-12-21 Sekimachiminami, Nerima-ku, Tokyo 177, Japan, Hal: 122-124.
- Papas A.M., 1999. Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health, *Library of Congress Cataloging-in-Publication Data*, CRC Press LLC, hal: 4-32, 211-219.
- Parimin S.P., 2005. Jambu Biji: Budi Daya dan Ragam Pemanfaatannya, Cet.1, Penebar Swadaya, Jakarta, hal: 5-21.
- Patellongi I., 2005. Pengaruh intensitas latihan fisik terhadap kerusakan jaringan, *Disertasi*, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.

- Pusposari Y., 2004. Validasi metode dan penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava l.*) secara KLT-Densitometri, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, hal: 31,58.
- Romero F.J., Morell F.B., Romero M.J., Jareño E.J., Romero B., Marin N., Romá J., 1998. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease, environment health perspectives, vol 106, supplement 5, October.
- Rukmini, D'Souza B., D'Souza V., 2004. Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malondialdehyde in schizophrenic patients, department of Biochemistry, Centre for basic sciences, Kasturba Medical College, Bejai, Mangalore, India, Indian journal of clinical biochemistry, 19 (2) 114-118, 2004.
- Saraf Sw., Ashawat M.S., Saraf Sh., 2007. Flavonoid: A nutritional protection against oxidative and UV induced cellular damages, Institute of pharmacy, Pt.Ravishankar Shukla University, Raipur, India, Pharmacognosy Reviews, Vol 1 Issue 1, Jan-May.
- Schneider dan Oliveira, 2004. Oxygen free radicals and exercise: Mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training, Study Group in Biochemistry and Exercise Physiology, Exercise Research Laboratory-Physical Education School, UFRGS, Porto Alegre, Brazil. Rev Bras Med Esporte-Vol.10, No 4- Jul/Ago.
- Setyowati E., 2004. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 70 % daun jambu biji (*Psidium guajava l.*) terhadap aktivitas komplemen pada tikus, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Soejono S. dan Harjadi F.I., 1984. Olahraga dan umur, dalam buku Simposium kesehatan dan olahraga, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal: 17-31.
- Soekarman R., 1987. Dasar olahraga untuk pembina, pelatih dan atlet. Inti Idayu Press, Cet.1, Jakarta, hal: 53-59.
- Soerjodibroto W., 1984. Persiapan gizi menjelang pertandingan, dalam buku Simposium kesehatan dan olahraga, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal: 55-67.
- Spielmann W., Seidl S., 1970. Modern problems of blood preservation, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, hal:1-10.
- Steenis C.V., Hoed DD., Bloembergen S., Eyma PL., 1997. Flora untuk sekolah di Indonesia, Cet.ke-7, Pradnya Paramita, Jakarta, hal: 315-316.

- Suara Merdeka, 2004. Jangan remehkan jambu biji, obat alami, sehat, Cyber News.
- Tanjung M., 2005. Isolasi dan identifikasi senyawa fenolik pada tanaman *Saccopetalum harsfieldii benn* yang mempunyai aktivitas sebagai inhibitor xantin oksidase dan anti radikal bebas scavengers, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Yazir Y., 1986. Segi fisiologi dari latihan fisik dan akibat-akibatnya, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan, Majalah Ilmu Faal Indonesia, Th.1 No.1 – Oktober.
- Young I.S. Dan Woodside J.V., 2001. Antioxidants in health and disease, J Clinical Pathology; 54: 176-186.
- Youngson R., 1994. The Antioxidant health plan, how to beat the effects of free radicals, Thorsons, London, hal: 1-13.
- Yunus M., Setyawan S., Effendi C., 2002. Pengaruh vitamin C terhadap fragilitas dan MDA eritrosit akibat latihan anaerobik, Majalah Ilmu Faal Indonesia Vol.1 No.2.
- Zhu B.T., 2004. CNS dopamine oxidation and catechol-O-methyltransferase: Importance in the etiology, pharmacotherapy, and dietary prevention of parkinson's disease, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, University of South Carolina, Columbia, International Journal of molecular medicine 13: 343-353.
- Zielińska M., Kostrzewa A., Ignatowicz E., Budzianowski J., 2001. The flavonoids, quercetin and isorhamnetin 3-O-acylglucosides diminish neutrophil oxidative metabolism and lipid peroxidation, Department of Pharmaceutical Biochemistry, Karol Marcinkowski University of Medical Sciences, Poznań, Poland, Acta Biochimica Polonica, Vol.48 No.1, Hal: 183-189.

LAMPIRAN 1

Penentuan besar sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut (Sastroasmoro, Ismael, 2002):

$$n = \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) \cdot S}{(X_t - X_c)} \right]^2$$

Keterangan:

n = besar sampel

Z_{α} = nilai pada kurva normal untuk nilai α tertentu.
untuk $\alpha = 0,05$ maka $Z_{\alpha} = 1,96$

Z_{β} = nilai pada kurva normal untuk nilai β tertentu
untuk $\beta = 0,1$ maka $Z_{\beta} = 1,28$

X_t = nilai rerata aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* yang diberikan latihan olahraga dan ekstrak ekstrak daun jambu biji = 33,808, atau nilai rerata kadar MDA plasma *Rattus norvegicus* yang diberikan latihan olahraga dan ekstrak daun jambu biji = 3,690, data ini diperoleh dari penelitian pendahuluan.

X_c = nilai rerata kontrol aktivitas SOD *Rattus norvegicus* yang diberikan latihan olahraga tanpa ekstrak daun jambu biji = 32,362, atau nilai rerata kontrol kadar MDA plasma *Rattus norvegicus* yang diberikan latihan olahraga tanpa ekstrak daun jambu biji = 20,052, data ini diperoleh dari penelitian pendahuluan.

S = simpangan baku aktivitas SOD eritrosit *Rattus norvegicus* = 0,842, atau simpangan baku kadar MDA plasma *Rattus norvegicus* = 0,500, data ini diperoleh dari penelitian pendahuluan.

Jumlah sampel dari perhitungan kadar MDA plasma :

$$n_{MDA} = \left[\frac{(1,96 + 1,28) \cdot 0,500}{(20,052 - 3,690)} \right]^2$$

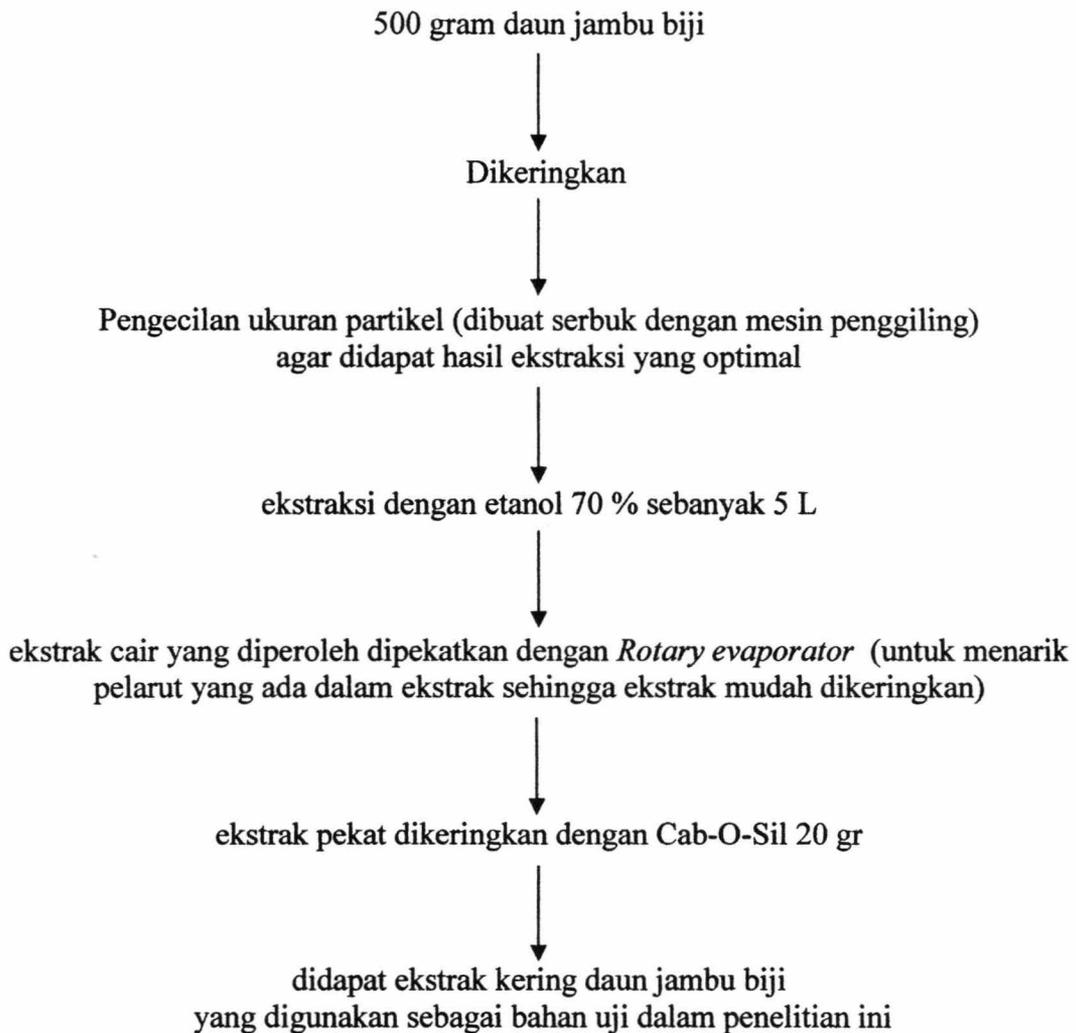
$$n_{MDA} = 0,0098$$

Jumlah sampel dari perhitungan aktivitas SOD eritrosit :

$$n_{SOD} = \left[\frac{(1,96 + 1,28) \cdot 0,842}{(33,808 - 32,362)} \right]^2$$

$$n_{SOD} = 3,56$$

Maka pada penelitian ini digunakan lima (5) ekor tikus untuk tiap kelompok.

LAMPIRAN 2**Pembuatan ekstrak daun jambu biji :**

LAMPIRAN 3

**TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS
UNTUK BEBERAPA JENIS HEWAN DAN MANUSIA**

Konversi Spesies	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 Kg	Kucing 2 Kg	Monyet 4 Kg	Anjing 12 Kg	Manusia 70 Kg	Manusia 50 kg
Mencit 20 g	1.0	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9	277.1
Tikus 200 g	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0	39.9
Marmot 400 g	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5	22.5
Kelinci 1,5 Kg	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2	10.1
Kucing 2 Kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0	9.3
Monyet 4 Kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1	4.4
Anjing 12 Kg	0.008	0.06	0.10	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1	2.2
Manusia 70 Kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0	0.7
Manusia 50 kg	0.0036	0.025	0.043	0.10	0.106	0.22	0.45	1.4	1.0

Dikutip dari :

Ghosh, M.N., 1971, *Fundamentals of Experimental Pharmacology*, Scientific
Book Agency, Calcutta.

Untuk menentukan dosis absolut beberapa spesies yang tercantum dalam baris paling atas, dosis per berat badan absolut beberapa spesies yang dicantumkan dalam kolom paling kiri dikalikan dengan nilai konversi yang terdapat pada potongan baris dan kolom yang sesuai.

LAMPIRAN 4

Cara kerja pemeriksaan kadar MDA plasma :

Pemeriksaan MDA ditentukan dengan reaksi perubahan warna dengan asam tiobarbiturat (TBA) menurut Uchiyama dan Mihara, 1978. Prinsip dari metode ini adalah pengaruh asam dan panas akan menyebabkan dekomposisi peroksida lemak dan pembentukan MDA. MDA yang terbentuk direaksikan dengan TBA sehingga terbentuk perubahan warna yang diukur menggunakan spektrofotometer.

Tata cara kerja sebagai berikut:

1. Diambil 1 cc darah sampel
2. Disentrifuge 3000 rpm 15 menit pada suhu ruangan
3. Supernatan diambil (plasma darah) 0,5 cc
4. Plasma yang diperoleh ditambah dengan TCA 100 μ L + 250 μ L HCl
kemudian divortex
5. Ditambah 100 μ L Na TBA
9. Divortex
10. Dipanaskan dalam *water bath* 97°C, 60 menit
11. Didinginkan dalam suhu ruangan dan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer pada λ : 531 nm.

LAMPIRAN 5

Cara kerja pemeriksaan aktivitas SOD eritrosit :

Penentuan kadar SOD menggunakan metode Wong. Prinsip metode ini adalah reaksi antara xantine dan xantine oksidase akan membentuk radikal bebas superoksida ($O_2^{\bullet-}$). Superoksida ini dapat mereduksi NBT (*Nitroblue Tetrazolium*) yang semula berwarna kuning menjadi formazan (ungu) yang dapat diukur dengan spektrofotometer. Langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Darah 1 cc disentrifuge 3000 rpm selama 10 menit
2. Supernatan dibuang
3. Endapan/pellet eritrosit dicuci dengan larutan 0,9 % NaCl dingin (3-4 X).
4. Kemudian ditambahkan berturut-turut : EDTA 0,2 ml, NBT 0,1 ml, Santin 0,1 ml, Santin Oksidase 0,1 ml, Buffer fosfat sampai 3,3 ml.
5. Diinkubasi pada suhu 37° selama 10 menit
6. Sentrifuge pada 3000 rpm, 10 menit
7. Dilihat absorbansi SOD dengan Spektrofotometer dengan λ : 580 nm

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar MDA Plasma (nmol/ml) Kontrol +	Kadar MDA Plasma (nmol/ml) Dosis 1	Kadar MDA Plasma (nmol/ml) Dosis 2	Kadar MDA Plasma (nmol/ml) Dosis 3
N		5	5	5	5
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	22.0112915	2.3684	3.6990	3.1652
	Std. Deviation	11.7065992	.3434	.1863	.5268
Most Extreme Differences	Absolute	.377	.228	.317	.329
	Positive	.377	.228	.147	.189
	Negative	-.212	-.137	-.317	-.329
Kolmogorov-Smirnov Z		.842	.511	.708	.736
Asymp. Sig. (2-tailed)		.477	.957	.698	.650

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb) Kontrol +	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb) Dosis 1	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb) Dosis 2	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb) Dosis 3
N		5	5	5	5
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	26.080261230	27.0620	28.9047	28.6667
	Std. Deviation	2.387542486	.6667	.7768	.8167
Most Extreme Differences	Absolute	.189	.280	.332	.125
	Positive	.188	.280	.332	.115
	Negative	-.189	-.177	-.233	-.125
Kolmogorov-Smirnov Z		.423	.625	.742	.279
Asymp. Sig. (2-tailed)		.994	.829	.640	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N	
Kelompok	0	Kontrol +	5
	1	Dosis 1	5
	2	Dosis 2	5
	3	Dosis 3	5

Descriptive Statistics

	Kelompok	Mean	Std. Deviation	N
Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	Kontrol +	22.011292	11.70659863	5
	Dosis 1	2.3683620	.34335618	5
	Dosis 2	3.6989500	.18630667	5
	Dosis 3	3.1651660	.52681352	5
	Total	7.8109425	9.99661785	20
Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	Kontrol +	26.080262	2.387542473	5
	Dosis 1	27.061967	.666720553	5
	Dosis 2	28.904708	.776825952	5
	Dosis 3	28.666657	.816716018	5
	Total	27.678399	1.728005136	20

Box's Test of Equality of Covariance Matrices^a

Box's M	78.695
F	6.744
df1	9
df2	2933.711
Sig.	.000

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept+KLP

Multivariate Tests^c

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.998	3941.217 ^a	2.000	15.000	.000
	Wilks' Lambda	.002	3941.217 ^a	2.000	15.000	.000
	Hotelling's Trace	525.496	3941.217 ^a	2.000	15.000	.000
	Roy's Largest Root	525.496	3941.217 ^a	2.000	15.000	.000
KLP	Pillai's Trace	.998	5.315	6.000	32.000	.001
	Wilks' Lambda	.168	7.193 ^a	6.000	30.000	.000
	Hotelling's Trace	3.957	9.232	6.000	28.000	.000
	Roy's Largest Root	3.688	19.672 ^b	3.000	16.000	.000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept+KLP

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	5.812	3	16	.007
Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	3.921	3	16	.028

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KLP

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	1348.817 ^a	3	449.606	13.082	.000
	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	27.073 ^b	3	9.024	4.868	.014
Intercept	Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	1220.216	1	1220.216	35.504	.000
	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	15321.875	1	15321.875	8264.940	.000
KLP	Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	1348.817	3	449.606	13.082	.000
	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	27.073	3	9.024	4.868	.014
Error	Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	549.898	16	34.369		
	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	29.661	16	1.854		
Total	Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	3118.931	20			
	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	15378.609	20			
Corrected Total	Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	1898.715	19			
	Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	56.734	19			

a. R Squared = .710 (Adjusted R Squared = .656)

b. R Squared = .477 (Adjusted R Squared = .379)

Estimated Marginal Means

Kelompok

Dependent Variable	Kelompok	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	Kontrol +	22.011	2.622	16.453	27.569
	Dosis 1	2.368	2.622	-3.190	7.926
	Dosis 2	3.699	2.622	-1.859	9.257
	Dosis 3	3.165	2.622	-2.393	8.723
Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	Kontrol +	26.080	.609	24.789	27.371
	Dosis 1	27.062	.609	25.771	28.353
	Dosis 2	28.905	.609	27.614	30.196
	Dosis 3	28.667	.609	27.376	29.957

Post Hoc Tests Kelompok

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Kadar MDA Plasma (nmol/ml)	Kontrol +	Dosis 1	19.642930*	3.7077566	.000	11.78283721	27.50302279
		Dosis 2	18.312342*	3.7077566	.000	10.45224921	26.17243479
		Dosis 3	18.846126*	3.7077566	.000	10.98603321	26.70621879
	Dosis 1	Kontrol +	-19.642930*	3.7077566	.000	-27.50302279	-11.78283721
		Dosis 2	-1.3305880	3.7077566	.724	-9.19068079	6.52950479
		Dosis 3	-.79680400	3.7077566	.833	-8.65689679	7.06328879
	Dosis 2	Kontrol +	-18.312342*	3.7077566	.000	-26.17243479	-10.45224921
		Dosis 1	1.33058800	3.7077566	.724	-6.52950479	9.19068079
		Dosis 3	.53378400	3.7077566	.887	-7.32630879	8.39387679
	Dosis 3	Kontrol +	-18.846126*	3.7077566	.000	-26.70621879	-10.98603321
		Dosis 1	.79680400	3.7077566	.833	-7.06328879	8.65689679
		Dosis 2	-.53378400	3.7077566	.887	-8.39387679	7.32630879
Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)	Kontrol +	Dosis 1	-.98170524	.86112479	.271	-2.807208237	.843797757
		Dosis 2	-2.8244462*	.86112479	.005	-4.649949237	-.998943243
		Dosis 3	-2.5863956*	.86112479	.008	-4.411898637	-.760892643
	Dosis 1	Kontrol +	.981705240	.86112479	.271	-.843797757	2.807208237
		Dosis 2	-1.8427410*	.86112479	.048	-3.668243997	-1.7238E-02
		Dosis 3	-1.6046904	.86112479	.081	-3.430193397	.220812597
	Dosis 2	Kontrol +	2.8244462*	.86112479	.005	.998943243	4.649949237
		Dosis 1	1.8427410*	.86112479	.048	1.7238E-02	3.668243997
		Dosis 3	.238050600	.86112479	.786	-1.587452397	2.063553597
	Dosis 3	Kontrol +	2.5863956*	.86112479	.008	.760892643	4.411898637
		Dosis 1	1.6046904	.86112479	.081	-.220812597	3.430193397
		Dosis 2	-.23805060	.86112479	.786	-2.063553597	1.587452397

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway

Descriptives

Kadar MDA Plasma (nmol/ml)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol +	5	22.01129	11.706598628	5.2353501	7.47562994	36.54695406	12.662000	42.409000
Dosis 1	5	2.368362	.343356183	.153553553	1.94202899	2.79469501	1.966090	2.894400
Dosis 2	5	3.698950	.186306669	.083318875	3.46761972	3.93028028	3.397247	3.900085
Dosis 3	5	3.165166	.526813517	.235598167	2.51104062	3.81929138	2.275530	3.629330
Total	20	7.810943	9.996617850	2.2353117	3.13238133	12.48950367	1.966090	42.409000

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA Plasma (nmol/ml)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.812	3	16	.007

ANOVA

Kadar MDA Plasma (nmol/ml)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1348.817	3	449.606	13.082	.000
Within Groups	549.898	16	34.369		
Total	1898.715	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar MDA Plasma (nmol/ml)

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol +	Dosis 1	19.642930*	3.7077566	.000	11.78283721	27.50302279
	Dosis 2	18.312342*	3.7077566	.000	10.45224921	26.17243479
	Dosis 3	18.846126*	3.7077566	.000	10.98603321	26.70621879
Dosis 1	Kontrol +	-19.642930*	3.7077566	.000	-27.50302279	-11.78283721
	Dosis 2	-1.3305880	3.7077566	.724	-9.19068079	6.52950479
	Dosis 3	-.79680400	3.7077566	.833	-8.65689679	7.06328879
Dosis 2	Kontrol +	-18.312342*	3.7077566	.000	-26.17243479	-10.45224921
	Dosis 1	1.3305880	3.7077566	.724	-6.52950479	9.19068079
	Dosis 3	.533784000	3.7077566	.887	-7.32630879	8.39387679
Dosis 3	Kontrol +	-18.846126*	3.7077566	.000	-26.70621879	-10.98603321
	Dosis 1	.796804000	3.7077566	.833	-7.06328879	8.65689679
	Dosis 2	-.53378400	3.7077566	.887	-8.39387679	7.32630879

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway

Descriptives

Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol +	5	26.080262	2.387542473	1.0677415	23.11573623	29.04478729	22.71763	28.76900
Dosis 1	5	27.061967	.666720553	.298166496	26.23412409	27.88980991	26.32424	28.13980
Dosis 2	5	28.904708	.776825952	.347407127	27.94015118	29.86926482	28.33857	30.25475
Dosis 3	5	28.666657	.816716018	.365246507	27.65257052	29.68074428	27.59537	29.72415
Total	20	27.678399	1.728005136	.386393695	26.86966724	28.48712984	22.71763	30.25475

Test of Homogeneity of Variances

Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.921	3	16	.028

ANOVA

Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.073	3	9.024	4.868	.014
Within Groups	29.661	16	1.854		
Total	56.734	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar SOD Eritrosit (u/g Hb)

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol +	Dosis 1	-.98170524	.86112479	.271	-2.807208237	.843797757
	Dosis 2	-2.8244462*	.86112479	.005	-4.649949237	-.998943243
	Dosis 3	-2.5863956*	.86112479	.008	-4.411898637	-.760892643
Dosis 1	Kontrol +	.981705240	.86112479	.271	-.843797757	2.807208237
	Dosis 2	-1.8427410*	.86112479	.048	-3.668243997	-1.7238E-02
	Dosis 3	-1.6046904	.86112479	.081	-3.430193397	.220812597
Dosis 2	Kontrol +	2.8244462*	.86112479	.005	.998943243	4.649949237
	Dosis 1	1.8427410*	.86112479	.048	1.7238E-02	3.668243997
	Dosis 3	.238050600	.86112479	.786	-1.587452397	2.063553597
Dosis 3	Kontrol +	2.5863956*	.86112479	.008	.760892643	4.411898637
	Dosis 1	1.6046904	.86112479	.081	-.220812597	3.430193397
	Dosis 2	-.23805060	.86112479	.786	-2.063553597	1.587452397

*. The mean difference is significant at the .05 level.



Foto 1. Perendaman (ekstraksi) serbuk daun jambu biji dengan etanol 70 %



Foto 2. *Rotary evaporator* untuk memekatkan ekstrak cair hasil ekstraksi

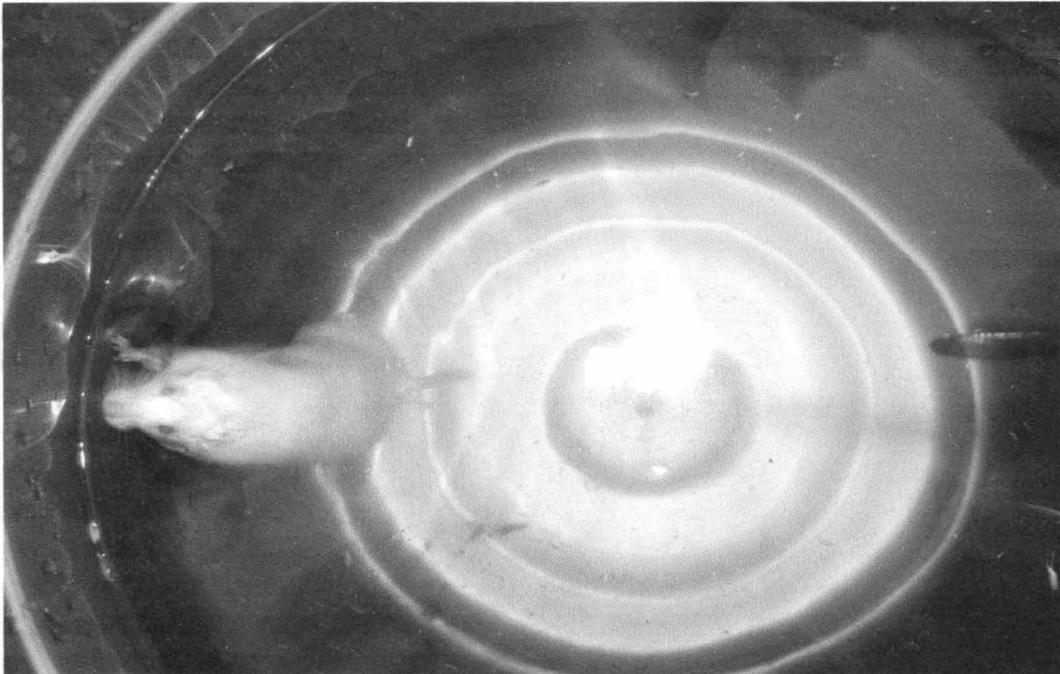


Foto 3. Latihan olahraga renang dengan beban 9 % BB tikus



Foto 4. Pengambilan darah melalui jantung

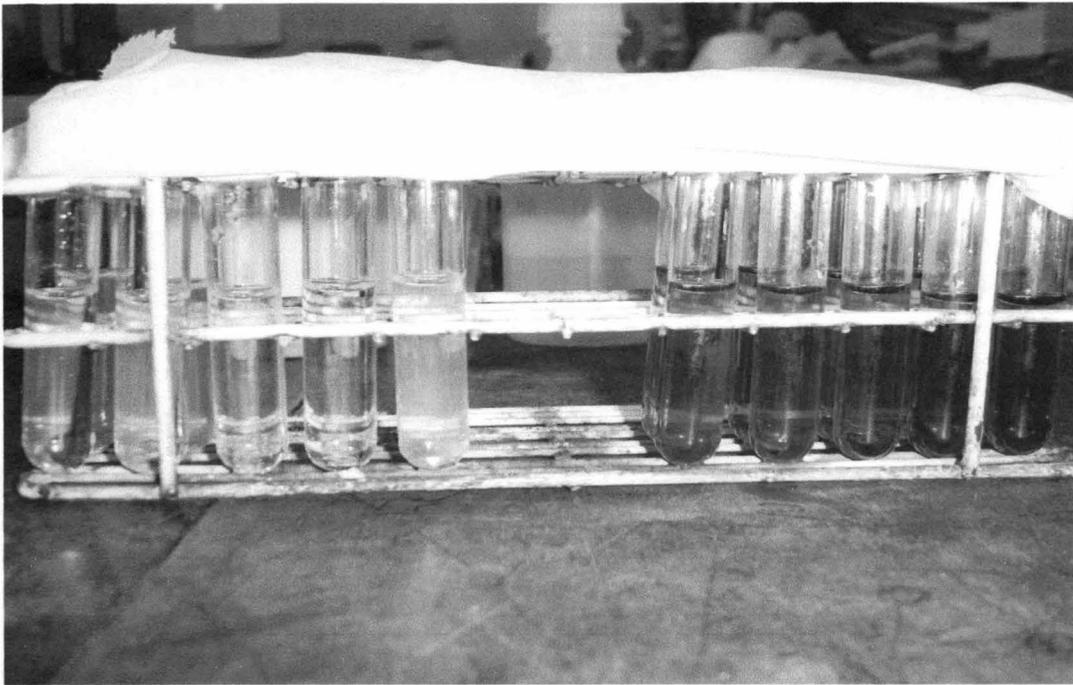


Foto 5. Pemeriksaan kadar MDA plasma dan aktivitas SOD eritrosit



Foto 6. Pembacaan dengan spektrofotometer