

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK METANOL DAUN TENGGULUN (*Protium javanicum* Burm f.) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA DAN AKTIVITAS SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA DARAH TIKUS WISTAR YANG TERPAPAR ASAP ROKOK

N. M. Puspawati*^{1,2}, I. D. G. Y. Paramartha¹, N. L. Rustini², dan P. S. Wijaya³

¹*Program Studi Magister Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Badung, Bali, Indonesia*

²*Program Studi Sarjana Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Badung, Bali, Indonesia*

³*Program Studi Sarjana Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Bali, Indonesia*

*Email: made_puspawati@unud.ac.id

ABSTRAK

Asap rokok merupakan salah satu penyedia radikal bebas eksogen yang dapat menimbulkan stres oksidatif dan berpotensi menyebabkan penyakit degenerative. Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. f.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol daun tenggulun terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan aktivitas superoksida dismutase (SOD) pada darah tikus Wistar yang dipapar asap rokok. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak kelompok dengan posttest-only control group design. 24 ekor tikus putih jantan galur Wistar dibagi dalam 4 kelompok yaitu kelompok kontrol P₀ (hanya diberi paparan asap rokok); kelompok perlakuan P₁, P₂, dan P₃ (diberi ekstrak metanol daun tenggulun dengan dosis berturut-turut 50, 100, dan 200 mg/kgBB dan paparan asap rokok). Semua kelompok dipapar asap rokok dengan dosis 3 batang per hari selama 15 menit selama 14 hari. Pada hari ke-15, darah masing-masing tikus diambil untuk dianalisis kadar MDA dan aktivitas SOD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol P₀ memiliki kadar MDA tertinggi yaitu $6,73 \pm 0,47 \mu\text{M}$ dan aktivitas SOD terendah yaitu $1,01 \pm 0,12 \text{ ng/mL}$ dibandingkan dengan kelompok perlakuan P₁, P₂, dan P₃. Hal ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok menyebabkan stress oksidatif. Pemberian ekstrak dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/Kg BB secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD jika dibandingkan dengan kontrol. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan, maka kadar MDA cenderung semakin menurun dan aktivitas SOD meningkat. Pemberian ekstrak metanol daun tenggulun dengan dosis 200mg/Kg BB (P₃) memberikan hasil terbaik dengan kadar MDA terendah yaitu sebesar $2,91 \pm 0,22 \mu\text{M}$ dan aktivitas SOD tertinggi sebesar $2,73 \pm 0,23 \text{ ng/mL}$ pada tikus Wistar yang terpapar asap rokok. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun tenggulun secara signifikan mampu menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD pada tikus yang terpapar asap rokok.

Kata kunci: asap rokok, malondialdehida, *Protium javanicum* Burm.f, superoksida dismutase.

ABSTRACT

Cigarette smoke is a source of free radicals that trigger oxidative stress which can cause inflammation and lung damage. Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. f.) is a plant that is known to have potential as an antioxidant. This study aims to determine the effect of giving tenggulun leaf methanol extract on malondialdehyde (MDA) levels and superoxide dismutase (SOD) activity in the blood of Wistar rats exposed to cigarette smoke. This research is a randomized posttest-only control group design using 24 male white Wistar rats which were divided into 4 groups namely the control group (P₀), only given exposure to cigarette smoke; the treatment group (P₁; P₂, and P₃) were exposed to cigarette smoke and given 50, 100, and 200 mg/Kg BW of methanol extract of tenggulun leaves respectively. All groups were exposed to cigarette smoke at a dose of 3 cigarettes per day for 15 minutes for 14 days. On the 15th day, the blood of each rat was taken to analyze its MDA level and SOD activity. The results showed that the control group (P₀) had the highest MDA level of $6.73 \pm 0.47 \mu\text{M}$ and the lowest SOD activity of $1.01 \pm 0.12 \text{ ng/mL}$ compared to the treatment groups P₁, P₂, and P₃. Administration of the extract at doses of 50, 100, and 200 mg/Kg BW significantly ($p < 0.05$) reduced MDA levels and boosted SOD activity when compared to control. The higher the extract dose given, the levels of MDA reduced and SOD activity tends to increase. In this study, the administration of methanol leaves extract of tenggulun with a dose of 200mg/Kg BW (P₃) on Wistar rats exposed to cigarette smoke gave the best results with MDA level of $2.91 \pm 0.22 \mu\text{M}$ and SOD activity of $2.73 \pm 0.23 \text{ ng/mL}$. The study concluded that the methanol extract of tenggulun leaves significantly reduced MDA levels and boosted SOD activity in rats exposed to cigarette smoke.

Keywords: cigarette smoke, malondialdehyde, *Protium javanicum* Burm.f, superoxide dismutase.

PENDAHULUAN

Indonesia, sebagai negara yang sedang berkembang, memiliki tingkat konsumsi tembakau dan produksi rokok yang tinggi (Mauliza *et al.*, 2018). Asap yang dihasilkan oleh rokok mengandung lebih dari 4700 zat kimia, termasuk oksidan dan radikal bebas, baik dalam bentuk gas maupun partikel. Jumlah radikal bebas, seperti tar dan semiquinon, memiliki kapasitas untuk memproduksi spesies oksigen reaktif lainnya, termasuk hidrogen peroksida, melalui proses reaksi fenton. Saat radikal bebas ini terhirup melalui saluran pernapasan, mereka dapat mengganggu fungsi mekanisme pertahanan antioksidan tubuh, yang berpotensi menyebabkan kerusakan pada sel (Angelis *et al.*, 2014).

Merokok akan menghasilkan radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga berpotensi terjadi stress oksidatif. Peningkatan ROS dapat mengakibatkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh, yang pada gilirannya menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif dapat memicu peroksidasi membran lipid, terutama Asam Lemak tidak jenuh (PUFA), yang merupakan komponen vital dalam struktur membran sel. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan dan perubahan struktural pada cairan membran biologis, serta dapat menghambat interaksi membran dengan reseptor atau enzim, mengganggu fungsi normal sel. Selain itu, stress oksidatif dapat menyebabkan peningkatan kadar malondialdehid (MDA), yang mengakibatkan kerusakan jaringan dan penurunan kadar antioksidan endogen seperti *Superoksida Dismutase* (SOD) (Elsayed dan Azab, 2019). Penelitian telah menunjukkan bahwa peroksidasi lipid, karbonilasi protein, dan oksidasi DNA meningkat dalam darah perokok dan organ hewan yang terpapar asap rokok (Carlos *et al.*, 2014).

Senyawa antioksidan memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas, dan antioksidan yang bersumber dari luar tubuh dapat menjadi strategi efektif untuk mengatasi dampak asap rokok (Lanzetti *et al.*, 2011). Antioksidan tersebut dapat diperoleh melalui konsumsi sayuran dan buah yang kaya akan vitamin A, C, dan E, serta melalui ekstrak tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin

(Tiwari dan Husein, 2017). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami adalah Tenggulun (*Protium javanicum* Burm f.). Tumbuhan tenggulun dilaporkan mengandung flavonoid, terpenoid, steroid, fenol, saponin, dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan (Puspawati, *et al.*, 2023). Pada penelitian yang dilakukan oleh Adfa *et al.* (2013) ekstrak daun tenggulun teridentifikasi mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu kuersetin, kuersitrin dan mirisitrin. Sehingga daun tenggulun sangat berpotensi sebagai antioksidan alami dalam menghambat dan mencegah terjadinya stress oksidatif.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak metanol daun tenggulun terhadap kadar MDA dan aktivitas SOD pada darah tikus Wistar yang terpapar asap rokok.

MATERI DAN METODE

Bahan

Daun tenggulun, akuades, metanol, natrium karboksimetil selulosa (CMC-Na), *Rat Superoxide Dismutase* ELISA Kit (Cat No. E0168Ra), MDA QuantiChrom™ TBARS Assay Kit (DTBA-100), metanol pro analisis (99%), ketamine, rokok kretek merk Kerbau Jaya, tikus Wistar jantan dan pakan tikus standar.

Alat

Seperangkat alat gelas, kertas saring, neraca analitik, desikator, *Vacuum Rotary Evaporator* (Buchi), sentrifugasi, pipet mikro kandang hewan uji, alat sonde, *Smoking Chamber*, tabung micro, Cool Box, kamera, spektrofotometer UV-Visible Shimadzu, dan seperangkat personal computer dengan software SPSS.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 600g serbuk kering daun tenggulun dengan kadar air 6,07% dimaserasi dengan metanol 99% selama 24 jam dengan pengadukan sesekali lalu disaring untuk memisahkan maserat dengan residunya. Residu yang diperoleh kemudian diremaserasi dengan cara yang sama, pengulangan dilakukan sebanyak dua kali. Semua maserat yang dihasilkan ditampung menjadi satu dan dipekatkan dengan

menggunakan alat penguap putar vakum (*Vacuum Rotary Evaporator*).

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Perlakuan terhadap hewan uji telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dengan Sertifikat *Ethical Clearance* No.B/90/UN14.2.9/PT.01.04/2022. Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan Wistar sehat, umur 2-3 bulan, berat \pm 200g. Tikus diaklimatisasi selama 1 minggu kemudian dibagi menjadi 4 kelompok yaitu P₀ kelompok kontrol (hanya dipapar asap rokok tanpa pemberian ekstrak), P₁, P₂, P₃ kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak metanol daun tenggulun dosis 50 mg, 100, dan 200 mg/KgBB dan paparan asap rokok. Metode yang digunakan mengacu pada Adyitia *et al.* (2014) dengan pemberian paparan asap rokok dari pembakaran 3 batang rokok per hari pada hewan uji selama 15 menit dalam kandang tertutup. Perlakuan dilakukan selama 14 hari dan pada hari ke 15 dilakukan pengambilan sampel darah.

Pengukuran Kadar Malondialdehid

Konsentrasi MDA dalam sampel darah tikus diukur menggunakan metode *Thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS), sesuai dengan petunjuk penggunaan QuantiChrom™ TBARS Assay Kit (DTBA-100). Pengukuran dilakukan dengan membuat larutan standar MDA yang bervariasi dalam konsentrasi 0, 9, 18, dan 30 μ M. Setiap sampel plasma darah diambil sebanyak 100 μ L, kemudian ditambahkan 200 μ L TCA 10% dan diinkubasi selama 5 menit. Sampel kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 14.000 rpm, dan supernatan diambil. Baik standar maupun sampel kemudian ditambahkan 200 μ L reagen TBA, dihomogenkan menggunakan vortex, dan diinkubasi pada suhu 100°C selama 60 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 535 nm

Pengukuran Superoksida Dismutase

Pengukuran SOD pada darah tikus dilakukan dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sesuai prosedur Rat Super Oxidase Dismutase ELISA Kit. Pengukuran dilakukan dengan pembuatan standar SOD dengan variasi konsentrasi 0, 0.75, 1.5, 3, 6 dan 12 ng/mL. Larutan standar masing-masing diambil 50 μ L dan sampel plasma darah diambil sebanyak 40 μ L dimasukkan pada well yang telah ditandai. Pada well berisi sampel ditambahkan 10

μ L larutan anti-SOD antibody dilanjutkan dengan penambahan 50 μ L Streptavidin-HRP pada well standar dan sampel dan ditutup, microplate diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.

Setelah diinkubasi Microplate dibuka dan dicuci dengan 300 μ L larutan buffer wash selama 30 – 60 detik, pencucian diulang sebanyak 5 kali dan microplate dikeringkan. Setelah kering ditambahkan 50 μ L larutan Substrat A dan B pada masing-masing well, microplate diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap. Setelah diinkubasi, ditambahkan 50 μ L stop solution pada masing-masing well. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 450 nm dengan *microplate reader*.

Analisis Data

Dalam penelitian ini, analisis data mencakup pemeriksaan normalitas kemudian dilanjutkan dengan homogenitas. Untuk mengevaluasi perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan, dilakukan uji perbandingan dengan menggunakan *one way Anova* dan diikuti pemeriksaan *Least Significant Differences (LSD)*. Analisis statistik dilakukan menggunakan bantuan perangkat lunak SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Tenggulun

Hasil maserasi 600g serbuk daun tenggulun menggunakan metanol diperoleh 52,68g ekstrak yang berwarna hijau kehitaman dengan rendemen sebesar 8,78%. Ekstraksi bahan alam sangat ditentukan oleh jenis dan jumlah senyawa kimia yang terkandung, metode ekstraksi, dan pelarut yang digunakan. Untuk mendapatkan ekstraksi yang menyeluruh pelarut yang sering digunakan adalah metanol. Metanol merupakan pelarut organik yang sangat efektif dalam mengekstrak senyawa-senyawa metabolit sekunder karena sifatnya yang mampu menarik hampir semua senyawa organik. Hal ini disebabkan karena gugus (-OH) dari metanol bersifat polar dan (-CH₃) non polar (Simamora *et al.*, 2021).

Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol Daun Tenggulun terhadap Kadar Malondialdehid

Asap rokok terdiri dari komponen tar dan gas yang mengandung oksidan dengan konsentrasi tinggi sehingga produksi ROS dan radikal bebas meningkat. Hal ini mengakibatkan stress oksidatif sehingga memicu reaksi peroksidasi lipid. Ketika asam lemak tak jenuh

diubah menjadi lipid peroksida dalam fosfolipid membran sel, maka hasil akhirnya adalah MDA (Angelis *et al.*, 2014).

Hasil pengukuran kadar MDA disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Kadar MDA

Kelompok	Jumlah Hewan Uji	Rerata Kadar MDA \pm SD (μ M)
P ₀	6	6,73 \pm 0,47 ^{b,c,d}
P ₁	6	5,94 \pm 0,22 ^{a,c,d}
P ₂	6	4,87 \pm 0,19 ^{a,b,d}
P ₃	6	2,91 \pm 0,22 ^{a,b,c}

Keterangan:

SD = Standar Deviasi
a,b,c,d = berbeda signifikan dengan kelompok P₀, P₁, P₂ dan P₃ nilai p<0,05

Seperti data pada Tabel 1, kelompok kontrol (P₀) menunjukkan rerata kadar MDA tertinggi sebesar 6,73 μ M bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Kadar MDA yang tinggi pada P₀ terjadi akibat dari pemberian paparan asap yang menyebabkan pembentukan radikal bebas menjadi sangat tinggi dan antioksidan endogen dalam tubuh tikus tidak mampu menetralkan tingginya kadar radikal bebas tersebut. Tingginya radikal bebas yang terbentuk akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid menghasilkan produk akhir berupa Malondialdehida (MDA) melalui oksidasi oleh radikal bebas (Khamceva *et al.*, 2016). Hal ini juga ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan Herdiani dan Afridah (2017) yang mendapatkan bahwa kelompok tikus yang hanya diberikan paparan asap rokok memiliki nilai kadar MDA paling tinggi dibandingkan kelompok yang diberikan asupan rosella merah kering.

Pemberian ekstrak metanol daun tenggulun dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/KgBB pada kelompok P₁, P₂ dan P₃ secara signifikan (p<0,05) berpengaruh terhadap kadar MDA pada darah tikus Wistar yang terpapar asap rokok. Rerata kadar MDA pada kelompok perlakuan P₁, P₂ dan P₃ lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (P₀) yaitu berturut-turut sebesar 5,94 \pm 0,22; 4,87 \pm 0,19; dan 2,91 \pm 0,22 μ M. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun tenggulun bertindak sebagai antioksidan sehingga dalam menghambat reaksi peroksidasi lipid. Ekstrak metanol daun tenggulun menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat terhadap

radikal DPPH dengan IC₅₀ 13,52 ppm (Simamora *et al.*, 2021) dan mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid seperti kuersetin, kuersitrin, dan mirisitrin (Adfa *et al.*, 2013) yang bertindak sebagai antioksidan dengan mendonorkan proton pada radikal bebas sehingga reaksi rantai peroksidasi lipid terhenti dan mengakibatkan penurunan kadar MDA (Ganesha *et.al.*, 2020).

Kuersetin memiliki sifat antioksidan yang dapat mengurangi konsentrasi MDA pada tikus yang mengalami stres oksidatif. Studi juga menunjukkan bahwa kuersetin efektif dalam menurunkan tingkat MDA pada lambung tikus wistar yang terinduksi oleh etanol (Coskun *et al.*, 2004). Kuersetin bertindak sebagai antioksidan dengan menyumbangkan sebuah atom hidrogen dari gugus hidroksil fenoliknya pada radikal bebas sehingga terbentuk radikal fenoksil kuersetin yang reaktivitasnya rendah karena distabilkan oleh struktur resonansi. Radikal fenoksil kemudian dapat melibatkan diri dalam reaksi lebih lanjut untuk membentuk senyawa yang kurang reaktif, melalui reaksi terminasi radikal (Kurniasari *et al.*, 2014).

Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol Daun Tenggulun Terhadap Aktivitas Superoksida Dismutase

Enzim SOD merupakan antioksidan endogen yang memiliki peran krusial dalam melindungi sel dari tekanan oksidatif. Data rerata aktivitas SOD pada setiap kelompok disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Aktivitas SOD

Kelompok	Jumlah Hewan Uji	Rerata SOD \pm SD (ng/mL)
P ₀	6	1,01 \pm 0,12 ^{b,c,d}
P ₁	6	1,23 \pm 0,10 ^{a,c,d}
P ₂	6	1,59 \pm 0,18 ^{a,b,d}
P ₃	6	2,73 \pm 0,23 ^{a,b,c}

Keterangan:

SD = Standar Deviasi
a,b,c,d = berbeda signifikan dengan kelompok P₀, P₁, P₂ dan P₃ nilai p<0,05

Data rerata aktivitas SOD seperti pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kontrol (P₀) memiliki aktivitas SOD paling rendah dengan nilai 1,01 \pm 0,12 ng/mL dibandingkan kelompok perlakuan. Penemuan ini mengindikasikan bahwa

pajanan terhadap asap rokok menghasilkan peningkatan jumlah radikal bebas pada tikus. Selama paparan asap rokok, radikal superoksida anion ($O_2^{\cdot-}$) terbentuk, suatu zat yang memiliki potensi bahaya bagi kesehatan tubuh. Enzim SOD mampu menetralkan radikal ini dengan mengubah dua molekul ($O_2^{\cdot-}$) menjadi molekul H_2O_2 dan O_2 . Kenaikan konsentrasi ($O_2^{\cdot-}$) secara berkelanjutan dapat menyebabkan jumlah radikal bebas dan antioksidan endogen tidak seimbang. Situasi ini dapat mengakibatkan peningkatan penggunaan enzim SOD, sehingga jumlah enzim SOD yang tersedia dalam tubuh mengalami penurunan. Hasil serupa juga dilaporkan oleh penelitian Prayitno *et al.* (2018) bahwa kelompok yang hanya di berikan paparan rokok memiliki aktivitas SOD terendah dibandingkan dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun sirih merah. Pemberian ekstrak metanol daun tenggulun dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/KgBB pada kelompok P₁, P₂ dan P₃ secara signifikan ($p < 0,05$) berpengaruh terhadap kadar SOD pada darah tikus Wistar yang terpapar asap rokok. Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar SOD pada kelompok perlakuan P₁, P₂, dan P₃ lebih tinggi dari pada kelompok kontrol P₀ yaitu berturut-turut sebesar $1,23 \pm 0,10$; $1,59 \pm 0,18$ dan $2,73 \pm 0,23$ ng/mL. Peningkatan aktivitas SOD pada kelompok yang menerima ekstrak dapat disebabkan karena kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak metanol daun tenggulun yang memiliki sifat antioksidan. Senyawa ini dapat mendukung fungsi SOD dalam menetralkan radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh. Salah satu senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol daun tenggulun adalah flavonoid. Flavonoid dapat merangsang ekspresi gen melalui aktivasi nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2), yang pada gilirannya meningkatkan produksi SOD (superoksida dismutase). Flavonoid juga memiliki kemampuan untuk menghambat enzim yang terlibat dalam pembentukan ROS, seperti *mikrosomal monoksidase*, *glutathione S-transferase*, *mitokondria succinoksidase*, dan NADPH oksidase. Sehingga pemberian ekstrak methanol daun tenggulun mengakibatkan penurunan jumlah ROS dan peningkatan aktivitas enzim SOD (Kumar *et al.*, 2013).

SIMPULAN

Pemberian ekstrak ethanol daun tenggulun dosis 50, 100, dan 200mg/Kg BB secara signifikan ($p < 0,05$) mampu menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas SOD

pada tikus yang terpapar asap rokok. Pemberian ekstrak ethanol daun tenggulun dengan dosis 200mg/Kg BB memberikan hasil terbaik dengan kadar MDA terendah yaitu sebesar $2,91 \pm 0,22$ μ M dan aktivitas SOD tertinggi sebesar $2,73 \pm 0,23$ ng/mL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana yang telah mendanai penelitian ini melalui skema Penelitian Unggulan Program Studi tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Adfa M., Hattori Y., Ninomiya M., Funahashi Y., Yoshimura T., Koketsu M. 2013. Chemical constituents of Indonesian plant *Protium javanicum* Burm. f. and their antifeedant activities against *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Natural Product Research*. 27(3): 270-273.
- Adyitia, A., Untari E. K., Wahdaningsih S. 2014. Efek ekstrak etanol daun *Premna cordifolia* terhadap malondialdehid tikus yang dipapar asap rokok. *Journal Pharma Science*. 1(2): 104-115.
- Angelis N, Porpodis K, Zarogoulidis P, Spyrtos D, Kioumis I, Papaiwannou A, Pitsiou G, Tsakiridis K, Mpakas A, Arikas S, Tsiouda T, Katsikogiannis N, Kougioumtzi I, Machairiotis N, Argyriou M, Kessisis G., and Zarogoulidis K. 2014. Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Journal of Thoracic Disease*. 6(1): 167–172.
- Carlos, S. P. De, Dias, A. S., Alberto, L., Júnior, F., Patricio, P. D., Graciano, T., Nesi, R. T., Valença, S., Meira, A., Chiappa, G., Jr, G. C., Souza, C. T. De, & Rogério, G. 2014. Oxidative damage induced by cigarette smoke exposure in mice: impact on lung tissue and diaphragm muscle. *J Bras Pneumol*. 40(4): 411–420.
- Coskun, O., Kanter, M., Armutcu, F., Kurtulus, C., Kaybolmaz, B., Yangan, O. 2004. Protective Effect of Quercetin a Flavonoid Antioxidant in Absolute Ethanol-Induced Acute Gastric Ulcer. *European Journal of General Medicine*. 1(3):37-42.
- Elsayed, A., dan Azab, A. E. 2019. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body Toxicological effects of

Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol Daun Tenggulun (*Protium Javanicum* Burm F.) terhadap Kadar Malondialdehida dan Aktivitas Superoksida Dismutase pada Darah Tikus Wistar yang Terpapar Asap Rokok

(N. M. Puspawati, I. D. G.Y. Paramartha, N. L. Rustini dan P. S. Wijaya)

- Propoxur View project Anti-dyslipidemic and Antiatherogenic Effects of Some Natural Products View project. *Journal of Biotechnology*. 6(1): 43–47.
- Ganesha, I. G. H., Linawati, N. M., Satriyasa, B.K. 2020. Pemberian Ekstrak Etanol Kubis Ungu (*Brassica oleraceae* L) Menurunkan Kadar MDA dan Jumlah Makrofag Jaringan Paru Tikus Yang Terpapar Asap Rokok. *Jurnal Ilmiah Medicamento* 6(1):1-9.
- Hediani, N dan Afridah, W. 2017. Efek Rosella Merah Kering Terhadap Kadar Mda Serum Tikus Strain Wistar Yang Di Papar Asap Rokok. *Medical and Health Science Journal*. 1(2): 47 – 56.
- Kamceva G, Arsova-Sarafinovska Z, Ruskovska T, Zdravkovska M, Kamceva-Panova L, Stikova E. 2016. Cigarette Smoking and Oxidative Stress in Patients with Coronary Artery Disease. *Maced J Med Sci*. 4(4):636-640.
- Kumar, S dan Pandey, A. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The ScientificWorld Journal*. 1-16.
- Mauliza, D., Rusli, R., Roslizawaty, R., Rosmaidar, R., Rinidar, R., Masyitha, D.2018. The total of leukocytes mice (*Mus musculus*) exposed to secondhand smoke extract and given watermelon (*Citrullus vulgaris*). *Journal Med. Vet*. 12(1): 48-52.
- Puspawati, N. M., Indukirana, G. A. G., Sukadana, I. M. 2023. Potensi Ekstrak n-Butanol Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Chemistry*. 17(1): 89-95.
- Prayitno, S. A., Kusnadi, J., Murtini, E. S. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol 90% Daun Sirih Merah terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Superoksida Dismutase (SOD) Mencit Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Journal of Chemistry*. 6(1): 1-9.
- Simamora, Y., Citra, A., Yusasrini, N. L. A., Putra, I. N. K. 2021. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Tenggulun (*Protium Javanicum* Burm. F) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan* 10(4): 681-689.
- Tiwari, S.C. dan Husain, N. 2017. Biological Activities and Role of Flavonoids in Human Health-A Review. *Indian J.Sci.Res*. 12(2): 193-196.