

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebiasaan merokok sebagai sumber radikal bebas masih menjadi bagian dari gaya hidup sebagian masyarakat, meskipun telah diketahui dampak negatif dari kebiasaan tersebut baik dari segi ekonomi, kesehatan, lingkungan maupun sosial. Dari segi kesehatan, rokok meningkatkan risiko terkena berbagai penyakit, terutama paru, kardiovaskular maupun kanker. Asap rokok merupakan campuran senyawa yang mengandung lebih dari 4000 bahan kimia dimana 200 bahan bersifat racun, dan 40 lebih bahan kimia dapat menyebabkan kanker atau karsinogen (Fowles, 2000; Nadjib, 2015).

Merokok merupakan salah satu kekhawatiran terbesar yang dihadapi dunia kesehatan karena menyebabkan hampir 6 juta orang meninggal dalam setahun karena menghisap langsung rokok, sedangkan 600.000 orang lebih meninggal karena terpapar asap rokok (WHO, 2015). Indonesia merupakan salah satu negara dengan prevalensi perokok terbesar di dunia. Persentase prevalensi perokok pria yaitu 67% jauh lebih besar daripada perokok wanita yaitu 2,7% (WHO, 2013).

Prevalensi pengguna rokok cukup tinggi ditambah dengan kecenderungan peningkatan penggunaannya, terutama di negara – negara berkembang. Jenis rokok yang dipakai kebanyakan adalah rokok kretek. Diperkirakan sejumlah 1,1 miliar perokok dunia umur 15 tahun ke atas, jumlah ini sepertiga dari total penduduk dunia. Prevalensi perokok Indonesia sebesar 34,7% dimana 52,3 % menghisap

rokok 1-10 batang setiap hari, 2 dari lima perokok saat ini merokok rata-rata 11-20 batang sehari, 4,7% perokok merokok 21-30 batang setiap hari dan 2,1 % merokok lebih dari 30 batang sehari (Nadjib, 2015).

Pada perokok tidak hanya berisiko terjadi gangguan paru-paru tetapi juga berisiko terhadap gangguan jantung dan pembuluh darah, hal ini akan berakibat pada penurunan kinerja jantung dan paru - paru, akibat radikal bebas yang bersumber dari rokok (Istiqomah, 2003). Radikal bebas dari asap rokok akan menyebabkan stres oksidatif yang menghasilkan perlukaan langsung dan mengaktifasi mekanisme molekuler yang menginisiasi inflamasi pada paru. Kondisi seperti ini apabila dibiarkan akan menyebabkan berbagai keadaan patologis yang dapat diawali dengan terjadinya penurunan kadar antioksidan jaringan, peroksidase lipid, oksidasi protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang menyebabkan perubahan patologis pada sel paru (Rahimah, 2010)

Dampak yang ditimbulkan akibat kebiasaan merokok dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi saluran napas dan jaringan organ paru. Pada saluran napas besar, sel mukosa membesar (*hyperthropy*) dan kelenjar mukus bertambah banyak (*hyperplasia*) sehingga terjadi penyempitan saluran napas. Merokok telah diketahui menyebabkan penyakit saluran pernapasan kronis dan sering membawa kematian. Penyakit yang terkait dengan rokok telah menyebabkan meninggalnya satu di antara sepuluh orang dewasa, atau menyebabkan 4-5 juta kematian setiap tahunnya (Davies, 2009&Triana, 2015). Beberapa penelitian menunjukkan gambaran kerusakan paru - paru akibat paparan asap rokok. Pada penelitian Nanin (2015) Gambaran Histologis Pulmo Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) setelah dipaparkan asap rokok elektrik, dengan lama paparan selama 2

minggumemberikan efek kerusakan paru-paru secara mikroskopik lumen alveolus membesar dan hubungan antar alveolus merenggang dibandingkan dengan hewan kontrol.

Radikal bebas terbentuk baik dari proses metabolisme normal didalam tubuh ataupun kondisi patologis dan sumber-sumber eksternal seperti asap rokok, polusi udara, radiasi, pestisida dan lain-lain. Pembentukan radikal bebas didalam sel terjadi secara terus menerus sebagai konsekuensi dari reaksi enzimatik maupun non-enzimatik. *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) merupakan kumpulan radikal bebas yang berasal dari oksigen seperti radikal *superoxide*, *hydroxyl*, *hydroperoxyl*, *lipid peroxyl* dan lain-lain (Wikana, 2011). Tingginya kadar ROS menyebabkan meningkatnya produksi lipid peroksida yang bersifat toksik dan dapat merusak integritas sel baik secara struktural maupun fungsional (Goldman dan Klatz, 2007).

Antioksidan (*electron donor*) dibutuhkan untuk mencegah, memperlambat dan meredam dampak negatif dari radikal bebas (*electron acceptor*). Antioksidan adalah substansi atau molekul yang dapat memperlambat atau mencegah kerusakan akibat oksidasi dari molekul lain seperti radikal bebas. Pada umumnya, antioksidan sebagai bahan pereduksi (senyawa pemberi elektron) mencegah kerusakan sel dengan cara mencegah pembentukan ROS, dengan menghentikan (deaktivasi, detoksifikasi) radikal bebas yang sudah terbentuk sebelum mereka merusak lebih lanjut komponen penting dari sel-sel tubuh (Galano, 2015).

Antioksidan ada yang berasal dari dalam tubuh dan ada pula yang berasal dari luar tubuh. Antioksidan yang berasal dari dalam tubuh misalnya adalah

superoxide dismutase (SOD), *catalase*, *peroxidase* dan *glutathione*. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh seperti vitamin A, C, E, selenium, dan berbagai *carotenoid*, *flavonoid* dan *polyphenol*, *anthocyanin* yang terdapat di dalam berbagai sayur mayur dan buah-buahan (Lobo *et al*, 2010).

Vitamin C terbukti dapat mengurangi oligomer $\alpha\beta$ dan stres oksidatif secara *invitro* dan *invivo*. Vitamin C (asam askorbat) merupakan senyawa alami yang bersifat antioksidan kuat dan mempunyai kemampuan mengikat zat-zat radikal seperti superoksida dan radikal hidroksil, serta juga bereaksi langsung dengan hidrogen peroksida (Xarr dan Frei, 1999). Pada beberapa reaksi vitamin C bersifat sebagai donor elektron, pada mencit betina yang dipapar Plumbum (Pb) setelah pemberian vitamin C 200 mg/kg BB dapat menurunkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) serta meningkatkan perkembangan folikel mencit sedangkan pemberian vitamin C dengan dosis 8,57 mg/g BB terbukti dapat menurunkan kadar MDA dan mempertahankan aktivitas SOD pada tikus jantan yang dipapar asap rokok kretek selama 30 hari (Laila, 2010; Muhammad, 2009).

Banyak penelitian tentang peranan radikal bebas dan antioksidan dalam menimbulkan kerusakan sel atau jaringan umumnya tidak langsung dikaitkan dalam patofisiologi kerusakan jaringan. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA (Winarsi, 2007). Pemberian ekstrak alga merah (*Gracillaria verrucosa*) pada dosis 100mg/kg BB pasca induksi formalin dapat menurunkan kadar MDA dan terdapat kerusakan sel-sel epitel paru (Anggun, 2015).

Berdasarkan uraian di atas maka penulis ingin melakukan penelitian pengaruh pemberian vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan gambaran histologi paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok.
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian vitamin C terhadap kerusakan jaringan paru pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kerusakan jaringan paru Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kerusakan jaringan paru pada Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan.

- 2 Untuk mengetahui kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kerusakan jaringan paru pada Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan tanpa pemberian vitamin C dan dipapar asap rokok.
- 3 Untuk mengetahui pengaruh pemberian Vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kerusakan jaringan paru pada Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok.

3.1 Manfaat Penelitian

Dengan adanya penelitian tentang pengaruh pemberian vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kerusakan jaringan paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok, maka penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada :

1.4.1 Akademik

Sebagai bahan kajian dan pengembangan ilmu tentang pengaruh pemberian vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kerusakan jaringan paru Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok.

1.4.2 Masyarakat

Memberikan informasi tentang bahaya radikal bebas yang ditimbulkan oleh asap rokok terhadap kesehatan serta penggunaan antioksidan dalam kehidupan sebagai salah satu cara untuk pertahanan tubuh terhadap dampak yang ditimbulkan oleh radikal bebas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anti Oksidan

2.1.1 Jenis Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang mampu mencegah dan memperlambat oksidasi dari molekul lain dan dapat menghambat proses oksidasi, bahkan dalam konsentrasi kecil memiliki peran fisiologis yang bermacam-macam dalam tubuh (Kumar, 2011). Terdapat bermacam-macam pembagian antioksidan. Namun pada dasarnya antioksidan dapat dibagi sebagai berikut (Gutteridge, 2007) :

1. Antioksidan internal atau endogen

Antioksidan internal atau endogen merupakan antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sendiri. Antioksidan endogen dapat dibagi menjadi :

- a. Enzimatis, seperti *Super Oxide Dismutase (SOD)* *Gluthation Peroxidase (GPx)* *Catalase (Cat)*
- b. Non enzimatis, seperti bilirubin, asam urat, melatonin

2. Antioksidan eksternal atau eksogen

Antioksidan eksternal atau eksogen merupakan antioksidan yang berasal dari luar tubuh atau makanan. Antioksidan eksogen antara lain adalah Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, Selenium, Karotenoid, Polifenol, *Flavonoid*, dan lain-lain.

Menurut Winarsih (2007) ada tiga kelompok antioksidan, yaitu :1) antioksidan enzimatis, 2) antioksidan pemutus rantai dan 3) antioksidan logam transisi terikat protein. Mekanisme kerja antioksidan enzimatis adalah

mengkatalisir pemusnahan radikal bebas dalam sel. Antioksidan pemutus rantai adalah molekul kecil yang dapat menerima dan memberi elektron dari atau ke radikal bebas, sehingga membentuk senyawa baru yang stabil. Sedangkan antioksidan logam transisi terikat protein bekerja mengikat ion logam seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} contohnya Flavonoid. Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas.

2.1.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Berdasarkan mekanisme pencegahan dampak negatif oksidan, maka antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan (Murray, 2009) :

a. Antioksidan Pencegah

Antioksidan pencegah berfungsi mencegah terbentuknya radikal hidroksil, yaitu radikal yang paling berbahaya bagi tubuh. Yang termasuk dalam golongan ini adalah :

1. *Super Oxide Dismutase* (SOD) yang berada di dalam mitokondria (Mn SOD) dan dalam sitoplasma (Cu Zn SOD).
2. *Catalase* (Cat) dalam sitoplasma, dapat mengkatalisir H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Komponen dari Cat adalah Fe.
3. Berbagai macam enzim peroksidase, seperti *glutathion peroxidase* yang dapat meredam H_2O_2 menjadi H_2O melalui siklus redoks glutathion.
4. Senyawa yang mengandung gugus sulfidril (glutathion, sistein, kaptopril) dapat mencegah timbunan radikal hidroksil dengan mengkatalisir menjadi H_2O .

b. Antioksidan Pemutus Rantai (*Change Breaking*)

Antioksidan pemutus rantai merupakan zat yang dapat memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak pada membran sel untuk mencegah peroksidasi lemak yang dapat mengakibatkan kerusakan sel. Antioksidan pemutus rantai dapat digolongkan menjadi antioksidan endogen (glutathione, sistein) dan eksogen (Vitamin C, Vitamin E dan beta-karoten) (Widowati, 2010).

2.1.3 Vitamin C

Vitamin merupakan zat organik yang harus tersedia dalam jumlah sedikit dari lingkungan karena vitamin tidak dapat disintesis secara *de novo* pada makhluk hidup. Peran utamanya adalah sebagai partisipan dalam proses katalitik (sebagai koenzim) dan pengatur proses metabolik. Vitamin yang bekerja sebagai antioksidan adalah vitamin C, vitamin E (*tokoferol, tokotrienol*) dan beta-karoten serta karotenoid, melindungi membran sel dan organel terhadap kerusakan oksidatif dan nitrosatif yang disebabkan oleh jenis oksigen reaktif dan nitrogen reaktif (Grober, 2012).

Vitamin C (Asam askorbat) ketika berfungsi sebagai donor ekuivalen pereduksi, asam askorbat dioksidasi menjadikasam dehidroaskorbat yang juga dapat bertindak sebagai sumber vitamin. Dalam banyak proses asam askorbat tidak berpartisipasi langsung tetapi diperlukan untuk mempertahankan agar kofaktor logam tetap berada dalam keadaan tereduksi (Harper, 2003). Pada level molekuler, asam askorbat dan dehidroaskorbat mempunyai sifat pereduksi (*reducing agent*) seperti halnya vitamin E, dalam keadaan demikian vitamin tersebut mempunyai sifat umum yang penting sebagai antioksidan yang

mempengaruhi redoks potensial tubuh. Dalam reaksinya asam askorbat memiliki dua peranan; sebagai sumber elektron untuk mereduksi oksigen dan zat pelindung untuk memelihara status reduksi besi (Fe) (Ryan, 2010 & Wilson *et al*, 2011).

2.2 Radikal Bebas

2.2.1. Definisi Radikal Bebas

Free radical atau radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (*unpaired electron*), sehingga menjadi komponen yang tidak stabil dan menjadi sangat reaktif. Radikal bebas memiliki sifat reaktivitas tinggi, karena kecenderungan menarik elektron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal oleh karena hilangnya atau bertambahnya satu elektron pada molekul lain (Wikana, 2011).

2.2.2. Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas diproduksi secara endogen dan diperoleh pula secara eksogen. Secara endogen, radikal bebas diproduksi oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma, dan inti sel. Secara eksogen, radikal bebas berasal dari asap rokok, polutan, radiasi ultraviolet, obat-obatan, dan pestisida. Oksigen yang kita hirup akan dirubah oleh sel tubuh secara konstan menjadi senyawa yang sangat reaktif, dikenal sebagai senyawa oksigen reaktif atau *Reactive Oxygen Species* (ROS). Peristiwa ini berlangsung saat proses sintesa energi di mitokondria atau proses detoksifikasi yang melibatkan enzim sitokrom P-450 di hati. Produksi ROS

secara fisiologis ini merupakan konsekuensi logis dalam kehidupan aerobik (Halliwell, 2007).

Sebagian ROS berasal dari proses fisiologis (ROS endogen) dan lainnya adalah ROS eksogen, seperti berbagai polutan lingkungan (emisikendaraan bermotor dan industri, asbestos, asap rokok, dan lain-lain), radiasi ionisasi, infeksi bakteri, jamur dan virus, serta paparan zat kimia (termasuk obat) yang bersifat mengoksidasi. Ada berbagai jenis ROS, contohnya adalah superoksida anion, hidroksil, peroksil, hidrogen peroksida, singlet oksigen, dan lain sebagainya (Wikana, 2011).

2.2.3. Sifat Radikal Bebas

Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Jadi sama halnya dengan oksidan, radikal bebas adalah penerima elektron. Itulah sebabnya dalam kepastiaan kedokteran, radikal bebas digolongkan dalam oksidan. Perlu diingat bahwa radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal. Hal ini disebabkan oleh kedua sifat radikal bebas di atas, yaitu reaktivitas yang tinggi dan kecenderungan membentuk radikal baru, yang pada gilirannya nanti apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*). Diantara senyawa-senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktivitasnya sangat tinggi (Wikana, 2011).

Radikal bebas lazimnya hanya bersifat perantara yang bisa dengan cepat diubah menjadi substansi yang tak lagi membahayakan tubuh. Bila radikal bebas sempat bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh ganda, maka merupakan awal dari kerusakan sel yang antara lain berupa:

1. Kerusakan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) pada inti sel.
2. Kerusakan membran sel.
3. Kerusakan protein.
4. Kerusakan lipid peroksida.
5. Proses penuaan.

Dalam keadaan normal tubuh kita memiliki mekanisme pertahanan terhadap kerusakan oleh radikal bebas yang beragam, efisien dan tersebar di berbagai tempat dalam sel. Menurut konsep radikal bebas, kerusakan sel akibat molekul radikal baru dapat terjadi bila kemampuan mekanisme pertahanan tubuh sudah dilampaui atau menurun (Halliwell, 2007).

2.3 Rokok dan Kandungan Rokok

Rokok adalah silinder dari kertas berukuran panjang antara 70 hingga 120 mm (bervariasi tergantung negara) dengan diameter sekitar 10 mm yang berisi daun-daun tembakau yang telah dicacah. Rokok dibakar pada salah satu ujungnya dan dibiarkan membara agar asapnya dapat dihirup lewat mulut pada ujung lain. Ada dua jenis rokok, rokok yang berfilter dan tidak berfilter (Surgeon General, 2014). Filter pada rokok terbuat dari bahan busa serabut sintetis yang berfungsi menyaring nikotin. Rokok adalah salah satu zat adiktif

yang bila digunakan mengakibatkan bahaya bagi kesehatan individu dan masyarakat. Kemudian ada juga yang menyebutkan bahwa rokok adalah hasil olahan tembakau terbungkus termasuk cerutu atau bahan lainnya yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tobacum*, *Nicotiana rustica* dan spesies lainnya atau sintesisnya yang mengandung nikotin dan tar dengan atau tanpa bahan tambahan (Kishore, 2014).

Rokok mengandung lebih dari 4000 senyawa kimia dimana 60 diantaranya bersifat karsinogenik. Sampai sekarang belum ada batas jumlah yang pasti dengan terpaparnya asap rokok untuk menimbulkan penyakit. Tetapi dari bukti yang ada, terpaparnya dengan asap rokok dalam waktu yang lama akan meningkatkan resiko yang fatal untuk kesehatan. Lebih dari 85% penderita kanker paru adalah perokok, berikut juga adanya hubungan dengan penderita kanker mulut, faring, laring, esofagus, pankreas, serviks, ginjal, ureter, kandung kemih dan kolon, leukemia juga merupakan salah satu penyakit yang dapat timbul akibat asap rokok (Pichandi *et al*, 2011).

Rokok dapat menimbulkan risiko penyakit kardiovaskuler termasuk stroke, kematian mendadak, gagal jantung, penyakit vaskular perifer dan pembengkakan pembuluh aorta. Banyak komponen yang terkandung di dalam rokok yang bersifat *ciliotoxic* dimana sifatnya mengiritasi dinding dari sistem pernafasan yang menyebabkan meningkatnya sekresi *mucus* di bronkus, penyakit pulmonal kronik dan fungsi dari mukosilia (Papathanasiou *et al*, 2014).

2.3.1 Nikotin

Nikotin adalah zat atau bahan senyawa *pirridin* yang terdapat dalam *Nicotina tabacum*, *Nicotina rustica* dan spesies lainnya atau sintesisnya yang bersifat adiktif dan dapat mengakibatkan ketergantungan. Nikotin bersifat sangat adiktif dan beracun, tidak berwarna. Nikotin dapat diserap melalui kulit, epitel paru serta selaput lendir pernafasan dan organ pencernaan yang dihirup dari asap rokok masuk ke paru – paru dan masuk ke dalam aliran darah kemudian masuk ke dalam otak perokok dalam tempo 10 – 20 detik. Nikotin yang terkandung dalam rokok adalah sebesar 0,5 – 3 nanogram dan semuanya diserap sehingga di dalam cairan darah ada sekitar 40 – 50 nanogram nikotin setiap 1mlnya (Viario, 2015).



Gambar 1. Struktur Kimia Nikotin (Sumber :Viario, 2015)

Nikotin bukan merupakan komponen karsinogenik. Hasil pemanasan dari nikotin seperti *dibensakridin*, *dibensokarbasol* dan *nitrosamin* adalah yang bersifat karsinogenik. Pada paru – paru, nikotin akan menghambat aktivitas silia. Selain itu, nikotin juga memiliki efek adiktif dan psikoaktif. Seketika itu, nikotin merangsang terjadinya sejumlah reaksi kimia yang mempengaruhi hormon dan neurotransmitter seperti adrenalin, dopamin dan insulin sehingga membuat sensasi yang nikmat pada rokok seketika tetapi sensasi ini hanya berlangsung seketika (Viario, 2015).

Menurut Papathanasiouet al(2014) menyatakan bahwa dalam asap rokok terdapat lebih dari 4000 substansi kimia, termasuk nikotin, karbon monoksida (CO), gas oksidatif, *polycyclic aromatic hydrocarbon*, *carbonyl*, *butadiene*, *carbon disulphide* dan *benzene*. Westenberger (2009) menyatakan bahwa kandungan rasa tambahan pada rokok juga mengandung bahan karsinogen yang berbahaya bagi manusia, termasuk *nitrosamine*, bahan-bahan kimia toksik seperti *dietilen glikol*, dan komponen bahan spesifik tembakau *anabasine*, *myosamine*, dan *beta-nicotyrine*.

2.3.2 Tar

Tar adalah senyawa polinuklir hidrokarbon aromatik yang bersifat karsinogenik. Sejenis cairan berwarna coklat tua atau hitam yang bersifat lengket dan menempel pada paru – paru sehingga dapat membuat warna gigi dan kuku seorang perokok menjadi coklat, begitu juga di paru – paru. Tar yang ada dalam asap rokok menyebabkan *paralise* silia yang ada di saluran pernafasan dan menyebabkan penyakit paru lainnya seperti emfisema, bronkitis kronik dan kanker paru (Pichandi *et al*, 2011).

2.3.3 Karbon Monoksida

Karbon monoksida adalah suatu zat beracun yang sifatnya tidak berwarna dan tidak berbau. Unsur ini dihasilkan oleh pembakaran tidak sempurna dari unsur zat arang atau karbon. Gas CO yang dihasilkan sebatang rokok dapat mencapai 3% - 6% dan gas ini dapat dihisap oleh siapa saja. Seorang yang merokok hanya akan menghisap 1/3 bagian saja, yaitu arus tengah sedangkan arus pinggirakan tetap berada diluar. Sesudah itu perokok

tidak akan menelan semua asap tetapi ia menyemburkan keluar lagi (Papathanasiou *et al*, 2014).

Gas CO mempunyai kemampuan mengikat hemoglobin yang terdapat dalam sel darah merah, lebih kuat dibandingkan oksigen sehingga setiap ada asap rokok, disamping kadar oksigen udaranya sudah berkurang, ditambah lagi sel darah merah akan semakin kekurangan oksigen karena yang diangkut adalah CO dan bukan oksigen. Sel tubuh yang kekurangan oksigen akan melakukan spasme yaitu menciutkan pembuluh darah. Bila proses ini berlangsung terus menerus maka pembuluh darah akan mudah rusak dengan terjadinya proses aterosklerosis (penyempitan). Penyempitan pembuluh darah akan terjadi di mana – mana. Terpaparnya dengan CO dalam jumlah yang besar dapat menyebabkan hilangnya kesadaran sampai meninggal (Kumar *et al*, 2009).

2.3.4 Arsenik

Sejenis unsur kimia yang digunakan untuk membunuh serangga terdiri dari unsur-unsur berikut:

1. Nitrogen oksida, yaitu unsur kimia yang dapat mengganggu saluran pernapasan, bahkan merangsang terjadinya kerusakan dan perubahan kulit tubuh.
2. Amonium karbonat, yakni zat yang bisa membentuk plak kuning pada permukaan lidah, serta mengganggu kelenjar makanan dan perasa yang terdapat pada permukaan lidah (Papathanasiou *et al*, 2014).

2.3.5 Amonia

Amonia merupakan gas tidak berwarna yang terdiri dari nitrogen dan hidrogen. Zat ini sangat tajam baunya. Amonia sangat mudah memasuki sel – sel tubuh. Saking kerasnya racun yang terdapat dalam zat ini, sehingga jika disuntikkan sedikit saja ke dalam tubuh bisa menyebabkan seseorang pingsan (Papathanasiou *et al*, 2014).

Dalam beberapa penelitian juga diketahui bahwa rokok mengandung beberapa senyawa berbahaya lain seperti *formic acid, acrolein, hydrogen cyanide, nitrous oksida, formaldehyde, phenol, acetol, hydrogen sulfide, pyridine, methyl chloride, dan methanol.*

2.4 Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan di mana dalam hal ini jumlah prooksidan di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya sehingga secara potensial dapat menimbulkan kerusakan yang dikenal sebagai kerusakan oksidatif. Jadi, stres oksidatif dapat dipandang sebagai gangguan keseimbangan antara produksi oksidan dan pertahanan antioksidan. Ketidakseimbangan oksidan-antioksidan ini dapat menyebabkan oksidasi makromolekul yang meliputi lipid, karbohidrat, asam amino, protein dan DNA, diikuti dengan kerusakan selular dan jaringan (Halliwell, 2007).

Pada prinsipnya stres oksidatif dapat diakibatkan oleh :

1. Berkurangnya antioksidan berupa mutasi yang menurunkan pertahanan antioksidan seperti GSH atau MnSOD; diet yang kurang akan

antioksidan dan unsur-unsur penting lainnya seperti zat besi, Zn, magnesium dan *copper*; defisiensi protein seperti *kwashiorkor* yang dapat menurunkan kadar GSH; dan kelebihan zat besi sehingga tidak mampu membuat *transferrin* secara cukup.

2. Peningkatan produksi spesies oksigen reaktif berupa paparan terhadap oksigen yang meningkat; adanya toksin-toksin yang menghasilkan spesies reaktif; dan aktivasi berlebih dari sistem "natural" penghasil spesies reaktif seperti aktivasi yang tidak tepat dari sel-sel fagosit pada penyakit-penyakit inflamasi kronis.

Kondisi stres oksidatif yang dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan proliferasi, adaptasi, kerusakan sel, penuaan (*senescence*), dan bahkan sampai pada kematian sel, dapat menyebabkan terjadinya percepatan proses penuaan. Stres oksidatif mempunyai peranan yang penting dalam etiologi terjadinya berbagai penyakit kardiovaskular, neurologis, obesitas, diabetes, kanker dan juga inflamasi dari proses *aging* (Mazzone *et al*, 2010).

2.4.1 Rokok dan stres oksidatif

Telah diketahui asap rokok dan tar mengandung banyak komponen yang telah teroksidasi, ROS, dan karsinogen yang dapat merusak DNA, membran dan makromolekul sel-sel. Merokok dapat meningkatkan stres oksidatif bukan hanya melalui produksi ROS dalam tar rokok dan asap tetapi juga melalui penurunan sistem pertahanan antioksidan. Merokok menyebabkan ketidakseimbangan proksidan dan antioksidan sehingga meningkatkan stres oksidatif yang diikuti oleh kenaikan peroksidasi lipid, kerusakan DNA oksidatif dan

gangguan pertahanan antioksidan enzimatik. Sudah terbukti bahwa stres oksidatif adalah kejadian yang penting dalam penyakit dan berhubungan dengan penyakit seperti kanker paru, kanker mulut dan penyakit paru obstruktif kronik (Burlakova dkk, 2010).

Karena itu stres oksidatif merupakan faktor penting dalam kesehatan dan penyakit, sehingga pengukuran stres oksidatif kini menjadi sangat penting dalam kedokteran pencegahan, termasuk kedokteran anti penuaan (Palmieri dan Sblendorio, 2010).

2.4.2 Peroksidasi lipid

Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lanjut. Peroksidasi (autooksidasi) lipid yang terpajan oleh oksigen bertanggung jawab tidak saja terhadap pembusukan makanan, tetapi juga kerusakan jaringan *in vivo*. Peroksidasi dapat menyebabkan kanker, penyakit peradangan, *aterosclerosis* dan penuaan. Efek merugikan diperkirakan disebabkan oleh radikal bebas yang dihasilkan sewaktu terbentuknya peroksida dari asam lemak yang mengandung ikatan rangkap yang diselingi metilen yaitu radikal bebas asam lemak yang terdapat pada asam lemak tidak jenuh ganda alami (Murray, 2009).

Radikal lipid yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi lipid dan lipid peroksida serta *Malondialdehyde* (MDA) yang larut dalam air dan dapat dideteksi dalam darah. Hal penting dari peroksidasi lipid adalah meningkatnya permeabilitas membran dan mengganggu distribusi ion-ion yang

mengakibatkan kerusakan fungsi sel dan organ. Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa PUFA (*Poly Unsaturated fatty acid*) (Winarsih, 2007).

2.4.3 *Malondialdehyde* (MDA)

Malondialdehyde (MDA) terbentuk dari kerusakan membran sel akibat adanya ROS pada fase stres oksidatif. Rangkaian proses peroksidasi yang diawali dengan terjadinya fragmentasi PUFA akan menghasilkan berbagai bentuk aldehide, alkena dan hidroalkena seperti *malondialdehyde* dan 4-hidroksio-2nonenal. *Malondialdehyde* sebagian besar terbentuk dari peroksidasi PUFA yang mengandung lebih dari satu ikatan ganda, seperti asam linoleat, *arachidonat* dan *deksaheksanoat*, meskipun sebagian terbentuk pada proses enzimatik metabolisme *eikosanoid*. Tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid, yang secara tidak langsung menunjukkan tingginya jumlah radikal bebas dan menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Malondialdehyde (MDA) dapat bereaksi dengan komponen nukleofilik atau elektrofilik dan dapat berikatan dengan berbagai molekul biologis seperti protein, asam nukleat dan aminofosfolipid secara kovalen. MDA dapat menghasilkan polimer dalam berbagai berat molekul dan polaritas. Efek negatif senyawa radikal maupun metabolit elektrolit ini dapat diredam oleh antioksidan, baik yang yang

berupa zat gizi seperti vitamin A, C, E dan albumin ataupun antioksidan nongizi seperti flavonoid dan *gingerol* (Winarsih, 2007).

Malondialdehyde(MDA) adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. MDA dilaporkan sangat toksik sekali terhadap membran sel, karena dianggap sebagai inisiator suatu reaksi, pelengkap karsinogen, maupun sebagai senyawa mutagen. Senyawa dialdehid ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. MDA juga merupakan produk yang dihasilkan dari radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk samping biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir oksidasi lipid membran. Di sisi lain, tingginya kadar MDA plasma juga membuktikan kerentanan membran sel terhadap reaksi oksidasi, akibatnya sel terutama membran sel akan mengalami kerusakan dan berakibat timbulnya penyakit-penyakit degeneratif, kanker, proses penuaan dan lain-lain (Winarsih, 2007).

Apabila mekanisme pertahanan antioksidan dalam tubuh hewan coba tidak mampu menetralkan atau mencegah meningkatnya ROS maka keadaan ini mengakibatkan terjadinya interaksi ROS dengan molekul lipid dalam membran sel membentuk molekul radikal bebas baru yaitu peroksidasi lipid yang menghasilkan MDA, senyawa ini merupakan senyawa toksik yang dapat memperberat kerusakan sel atau jaringan. Kadar MDA plasma fisiologis adalah kurang dari 4nmol/ml (Siswanto, dkk., 2014).

2.5 Efek Paparan Asap rokok

Merokok bukanlah penyebab suatu penyakit, tetapi dapat memicu suatu jenis penyakit sehingga boleh dikatakan merokok tidak menyebabkan kematian secara langsung, tetapi dapat mendorong munculnya jenis penyakit yang dapat mengakibatkan kematian. Berbagai jenis penyakit dapat dipicu karena merokok mulai dari penyakit di kepala sampai dengan penyakit di kaki. Penyakit yang bisa disebabkan oleh merokok adalah seperti sakit kardiovaskuler, penyakit jantung koroner dan kanker seperti kanker paru-paru, kanker mulut, kanker esophagus (Papathanasiou *et al*, 2014).

Kerusakan pada berbagai sistem organ tersebut disebabkan oleh berbagai macam zat toksik, iritan dan radikal bebas yang ada dalam asap rokok. Asap rokok merupakan sumber radikal bebas yang dapat mengakibatkan kerusakan sel secara umum melalui tiga cara, yaitu : peroksidasi komponen lipid dari membran sel yang menyebabkan serangkaian reaksi asam lemak (otokatalisis) yang berakibat kerusakan membran dan organel sel, merusak DNA yang mengakibatkan mutasi DNA bahkan kematian sel, dan modifikasi protein teroksidasi karena terbentuknya *cross linking* protein melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti : sistein, metionin, lisin dan histidin (Galano, 2015).

Terjadinya proses peroksidasi pada sel akan diikuti oleh perubahan struktur membran plasma, sehingga mengubah kestabilan dan fungsi membran. Rusaknya membran plasma mitokondria mengakibatkan hilangnya fungsi sel (Gupta *et al*, 2009). Peristiwa tersebut tidak terlepas dari fakta bahwa perilaku merokok erat kaitannya dengan faktor ketergantungan fisik

perokok pada nikotin. Ketergantungan fisik pada nikotin merupakan faktor determinan seseorang mempertahankan perilaku merokok. Saat merokok, nikotin yang ada pada daun tembakau akan terhisap bersama asap rokok kedalam alveoli paru, kemudian masuk ke peredaran darah dan mencapai otak sebagai target organ hanya dalam waktu 7 detik (Caggiula *et al*, 2009).



3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Kerangka berfikir pada penelitian ini didasarkan pada teori yang menyatakan bahwa, pengobatan dan pencegahan penyakit yang difokuskan pada mekanisme oksidatif, seperti halnya pencegahan dengan menggunakan antioksidan untuk mengantisipasi efek radikal bebas.

Asap rokok mengandung senyawa – senyawa berbahaya yang merupakan sumber radikal bebas. Radikal bebas ialah suatu atom atau molekul yang mempunyai susunan elektron tidak berpasangan sehingga bersifat tidak stabil. Untuk menjadi stabil radikal bebas akan merusak sel-sel untuk mendapatkan elektron pasangannya dan terjadilah reaksi berantai yang menyebabkan kerusakan jaringan yang luas.

Peningkatan produksi ROS/ RNS berasal dari peningkatan oksidasi dari DNA dan RNA, oksidasi protein dan peroksidasi lipid. Penyakit seperti diabetes, hipertensi, obesitas, kebiasaan merokok dan pekerjaan tertentu dapat meningkatkan ROS / RNS. Konsumsi antioksidan vitamin A, C, E, Zink dan selenium yang rendah dapat mengakibatkan stres oksidatif.

Pada kondisi stres oksidatif, radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dan merusak membran sel. Membran sel ini sangat penting bagi fungsi reseptor dan fungsi enzim, sehingga terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel oleh radikal bebas dapat mengakibatkan hilangnya fungsi sel. Dalam reaksi peroksidasi lipid akan menghasilkan berbagai produk termasuk aldehid rantai pendek seperti *Malondialdeyde* (MDA). Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Jika paparan terjadi dalam waktu lama dan terus menerus dapat berakibat kerusakan sel termasuk

paru-paru. Kerusakan pada paru akan berakibat menurunnya fungsi paru sehingga terjadi penurunan kadar oksigen dalam darah.

Untuk mencegah terjadinya efek buruk dari radikal bebas diperlukan antioksidan. Salah satu antioksidan yang banyak dijumpai dan mudah didapat adalah vitamin C. Pemberian Vitamin C diharapkan dapat meningkatkan proses fisiologis sistem tubuh sebagai antioksidan. Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan vitamin C sebagai antioksidan untuk mengurangi radikal bebas yang diakibatkan oleh asap rokok pada kebiasaan merokok dengan menggunakan MDA sebagai parameter untuk mengetahui kadar antioksidan dan oksidan dalam tubuh pada saat mengkonsumsi anti oksidan dan pembuatan sediaan jaringan dari organ paru untuk melihat efek pemberian anti oksidan terhadap kerusakan sel dan jaringan pada organ paru.

3.3 Hipotesis

- 3.3.1 Terdapat pengaruh pemberian Vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok.
- 3.3.2 Terdapat pengaruh pemberian Vitamin C terhadap kerusakan jaringan parutikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipaparasap rokok.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan desain *post test only control group* yaitu rancangan yang digunakan untuk melihat pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Siswanto, 2013) yang menggunakan hewan percobaan sebagai objek penelitian.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1. Tempat Penelitian

Pemeliharaan hewan coba sampai mendapatkan serum dilakukan di *animal house* yang merupakan bagian dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan pembuatan sediaan histologi paru di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

4.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September 2017 – Juni 2018.

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Strain *Wistar*.

4.3.2. Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria yaitu :

Kriteria inklusi :

1. Tikus putih (*Rattus Norvegicus*) jenis kelamin jantan
2. Umur 2-3 bulan
3. Berat badan rata-rata 200-300 g

Kriteria eklusi :

1. Berat badan tikus menurun hingga 10% dari berat awal selama aklimatisasi

Sampel diambil dari populasi dengan menggunakan teknik *simple random sampling* (acak sederhana) dengan cara pengundian (Sugiyono, 2008). Pada setiap tikus yang memenuhi kriteria inklusi diberikan nomor secara urut (*sampling frame*), tikus yang nomornya terambil dalam undian adalah sampel yang dipilih. Perhitungan besar sampel dengan menggunakan rumus *Federer* (Hidayat, 2007), yaitu :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$(4)(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75 \text{ atau } n \geq 5$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap kelompok

Jadi jumlah sampel keseluruhan $5 \times 5 = 25$ ekor

Untuk mengantisipasi *dropout* sampel selama perlakuan, maka jumlah pada masing-masing kelompok perlakuan di tambah 10% - 20%, sehingga jumlah tikus sebanyak 30 ekor. Untuk kelompok kontrol dan jumlah kelompok perlakuan sama yakni 6 ekor tiap kandang.

4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1. Variabel Independen :

Vitamin C

4.4.2. Variabel Dependen

1. Kadar *Malondialdehyde* (MDA)
2. Histologi paru

4.4.3. Definisi Operasional Penelitian

1. Vitamin C

Definisi : Vitamin C dengan merk dagang IPI C

berbentuk tablet yang diberikan pada Tikus kelompok perlakuan.

Alat ukur : Timbangan

Hasil Ukur : Berat Vitamin C dalam Miligram (mg) beberapa tingkat dosis (3,6 mg; 5,4 mg; 9 mg)

Skala ukur : Ordinal



2. Kadar *Malondialdehyde* (MDA)

Pengertian : Konsentrasi *Malondialdehyde* (MDA) pada serum darah Tikus perlakuan.

Alat Ukur : *Spektrofotometer*

Hasil Ukur : Kadar MDA dalam nmol/ml

Skala Ukur : Rasio

3. Kerusakan Jaringan Paru

Pengertian : Tingkat kerusakan jaringan paru Tikus kelompok perlakuan berdasarkan Hansel & Barnes.

Cara Ukur : Melihat gambaran histologi

Alat Ukur : Mikroskop

Hasil Ukur : Skor Kerusakan; Ringan(1), Sedang(2) dan Berat(3)

Skala Ukur : Ordinal

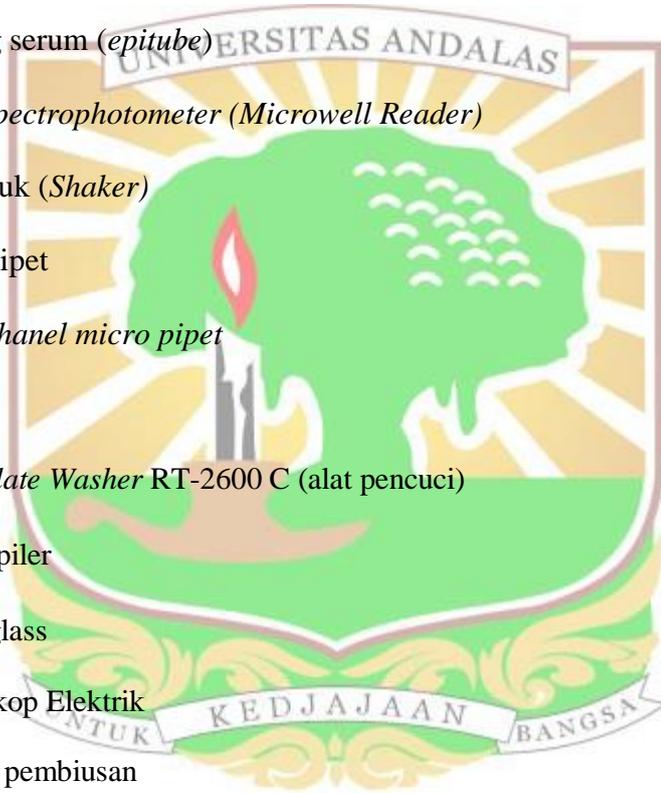
4.5. Bahan dan Alat yang Digunakan

4.5.1. Bahan yang Digunakan

- Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang memenuhi kriteria inklusi.
- Vitamin C dengan merk dagang Vitamin CIPI produk IPI @dosis 50mg
- Bahan untuk memeriksa kadar *Malondialdehyde* (MDA) berupa kit pemeriksaan *Malondialdehyde* (MDA) dengan metode Elisa.
- Pakan standar (pellet) tikus, air minum, *aquades*, alkohol, parafin, pewarna *Hematoksin Eosin* (HE).
- Serum yang diperoleh dari darah hewan coba.

4.5.2. Alat yang Digunakan

- a. Kandang tikus (bak plastik) dengan ukuran 40 cm x 10 cm x 15 cm lengkap dengan pakan dan minum sebanyak 5 buah sebagai tempat pemeliharaan tikus.
- b. Timbangan analitik dengan kapasitas 500 g untuk menimbang BB tikus.
- c. Sonde lambung dengan ukuran 5 ml untuk pemberian perlakuan.
- d. Alat sentrifugasi untuk mendapatkan serum darah tikus.
- e. Tabung serum (*epitube*)
- f. Elisa *Spectrophotometer* (*Microwell Reader*)
- g. Pengaduk (*Shaker*)
- h. Mikropipet
- i. *Multi chanel micro pipet*
- j. *Tissue*
- k. *Microplate Washer RT-2600 C* (alat pencuci)
- l. Pipa kapiler
- m. Objek glass
- n. Mikroskop Elektrik
- o. Tempat pembiusan
- p. *Hematoksin Eosin* (HE)
- q. *Microtube* (tabung serum)
- r. *Mikrotom*
- s. *Instrument* untuk pemeriksaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) berupa *Rat Malondialdehyde* (MDA) ELLISA kit dengan merek dagang Bioassay Technology Laboratory.



4.6. Prosedur Kerja

4.6.1. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba sebelum dilakukan penelitian, diaklimatisasi selama 1 minggu di *animal house* Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Setelah tahap aklimatisasi hewan coba ditimbang berat badannya, bila terdapat penurunan berat badan hingga 10% hewan coba dikategorikan tidak sehat, maka dikeluarkan dari penelitian. Makanan tikus diberikan dalam bentuk pellet dengan konsumsi rata-rata 5 g pakan/ekor/hari. Konsumsi air minum rata-rata 6,7 ml/ekor/hari. Kandang tikus berukuran 40 cm x 10 cm x 15 cm yang terdiri dari kandang bak plastik, kawat kasa 0,5 cm sebagai penutup kandang, botol tempat minum, tempat pakan dan serbuk kayu sebagai alas kandang (Widiartini *et al.*, 2013).

4.6.2. Dosis

Vitamin C

Pemberian dosis vitamin C pada penelitian ini berdasarkan penelitian Laila (2012) dengan mengambil dosis awal 200 mg/kgBB/hari, 300 mg/kgBB/hari dan 500 mg/kgBB/hari. Perhitungan kebutuhan vitamin C berdasarkan berat badan tikus adalah sebagai berikut:

Dosis I :

Kebutuhan vitamin C = 200 mg/kgBB/hari

Berat badan tikus = 250 g

Kebutuhan vitamin C tikus = $200 \times 0,018$

= 3,6 mg/hari

Vitamin C dosis I untuk 6 ekor tikus selama 21 hari adalah $3,6 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 21 \text{ hari} = 453,6 \text{ mg}$ jumlah ini setara dengan 9 tablet vitamin C IPI.

Untuk mempermudah proses sonde, vitamin C diencerkan menggunakan *aquadest* steril sampai volume 1 ml. Total vitamin C (9tablet) $\times 1 \text{ ml} \times 21 \text{ hari} = 189 \text{ ml}$.

Dosis II :

Kebutuhan vitamin C = 500 mg/kg/hari

Berat badan tikus = 250 g

Kebutuhan vitamin C tikus = $500 \times 0,018$

= 9 mg/hari

Vitamin C dosis II untuk 6 ekor tikus selama 21 hari adalah $9 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 21 \text{ hari} = 1.134 \text{ mg}$ jumlah ini setara dengan 22,6 tablet vitamin C IPI di bulatkan menjadi 23 tablet vitamin C IPI.

Untuk mempermudah proses sonde, vitamin C diencerkan menggunakan *aquadest* steril sampai volume 1 ml. Total vitamin C (23 tablet) $\times 1 \text{ ml} \times 21 \text{ hari} = 294 \text{ ml}$.

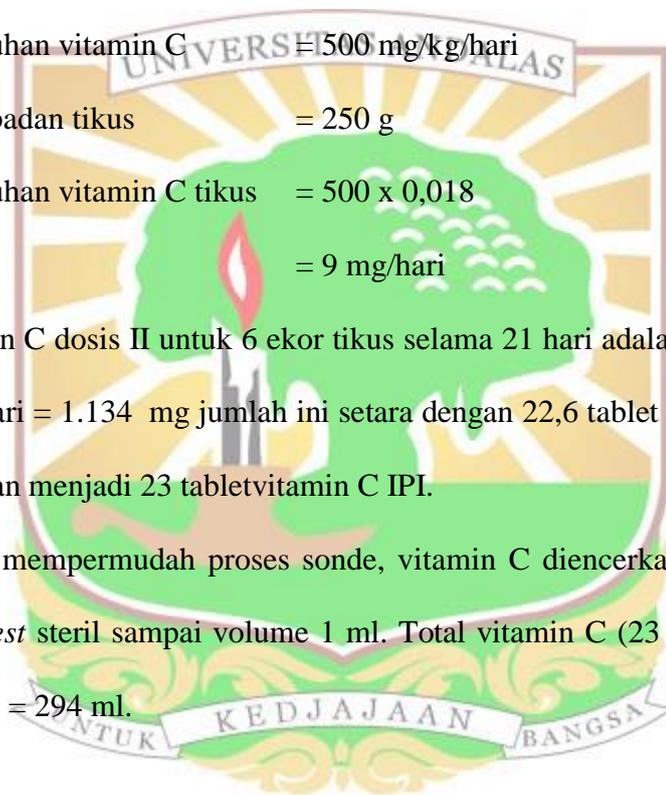
Dosis III :

Kebutuhan vitamin C = 1000 mg/kg/hari

Berat badan tikus = 250 g

Kebutuhan vitamin C tikus = $1000 \times 0,018$

= 18 mg/hari



Vitamin C dosis III untuk 6 ekor tikus selama 21 hari adalah $18 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 21 \text{ hari} = 2.268 \text{ mg}$ jumlah ini setara dengan 45,2 tablet vitamin C IPI di bulatkan menjadi 45 tablet vitamin C IPI.

Untuk mempermudah proses sonde, vitamin C diencerkan menggunakan *aquadest* steril sampai volume 1 ml. Total vitamin C (77 tablet) $\times 1 \text{ ml} \times 21 \text{ hari} = 1.617 \text{ ml}$.

Dalam penelitian ini, berat badan tikus dianggap sama yakni 250 g.

Pemaparan asap rokok

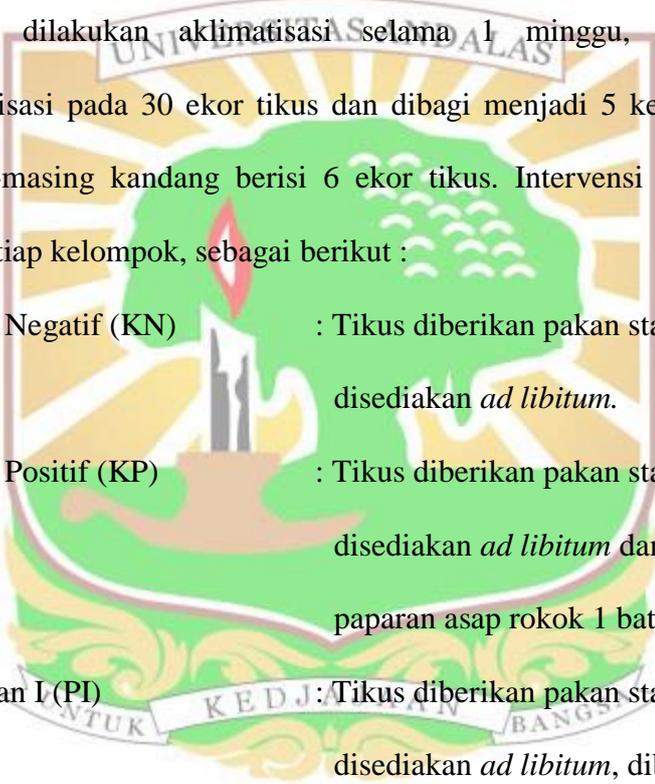
Pemberian paparan asap rokok pada penelitian ini berdasarkan penelitian Idris & Hartamto (2006) yakni perokok berat menghabiskan 40 batang rokok per hari, dan berat badan laki-laki dewasa sekitar 70 kg. Tikus dewasa mempunyai berat badan sekitar 200-300 g, sehingga bila dikonversikan dengan berat badan laki-laki dan toleransi tikus, maka setiap tikus per hari mendapat asap dari 1 batang rokok. Rokok yang digunakan adalah rokok kretek, karena perokok kretek di Indonesia lebih banyak dari pada rokok putih.

Proses pemaparan berdasarkan penelitian Muhamad (2009) dilakukan dengan menggunakan chamber (*Smoking Box*), yaitu sebuah kotak plastik yang dihubungkan dengan tempat pembakaran rokok dan lubang udara yang dimodifikasi. Pada chamber ini terdapat dua lubang yang satunya dihubungkan dengan lubang udara dan yang satunya lagi tempat memasukkan asap rokok. Tikus dimasukan kedalam chamber, rokok dibakar dengan menggunakan pompa dari *Spuut* yang dimodifikasi .

Biarkan sampai chamber penuh terisi asap rokok, lalu lubang udara dibuka. Setelah asap rokok dalam chamber habis maka penutup *smoking box* dibuka. Kegiatan ini dapat berulang sampai empat kali untuk satu batang rokok dengan lama waktu lebih kurang 20 menit untuk. Satu batang rokok dibakar sampai tersisa dua cm.

4.6.3. Tahap Perlakuan

Setelah dilakukan aklimatisasi selama 1 minggu, lalu dilakukan randomisasi pada 30 ekor tikus dan dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kandang berisi 6 ekor tikus. Intervensi yang dilakukan pada setiap kelompok, sebagai berikut :

- 
- Kontrol Negatif (KN) : Tikus diberikan pakan standar, air disediakan *ad libitum*.
- Kontrol Positif (KP) : Tikus diberikan pakan standar, air disediakan *ad libitum* dan diberikan paparan asap rokok 1 batang per hari.
- Perlakuan I (PI) : Tikus diberikan pakan standar, air disediakan *ad libitum*, diberikan paparan asap rokok 1 batang per hari dan pemberian vitamin C dengan dosis 3,6 mg/kgBB/hari.
- Perlakuan II (PII) : Tikus diberikan pakan standar, air disediakan *ad libitum*, diberikan paparan asap rokok 1 batang per hari dan

pemberian vitamin C dengan dosis
9 mg/kgBB/hari.

Perlakuan III (PIII) : Tikus diberikan pakan standar, air
disediakan *ad libitum*, diberikan
paparan asap rokok 1 batang per hari dan
pemberian vitamin C dengan dosis
18 mg/kgBB/hari.

4.6.4. Pengambilan Sampel Darah

- a. Sebelum pengambilan darah dilakukan pembiusan dengan meletakkan obat bius (*cloroform*) pada dasar stoples, kemudian hewan dimasukkan di dalam wadah lalu ditutup.
- b. Dilakukan pembedahan pada tikus lalu diambil darah melalui *arteri* pada jantung dengan menggunakan spuit 3 cc
- c. Dipindahkan darah ke dalam *vacutainer* lalu letakkan di rak tes tube.
- d. Selanjutnya darah dibiarkan selama 10 menit didalam suhu ruangan agar terjadi pemisahan dan aglutinasi serum dan presipitatnya.
- e. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada suhu ruangan dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum.
- f. Pisahkan serum dari presipitat simpan dalam serum tube dan disimpan dalam refrigerator dengan suhu -20°C .
- g. Selanjutnya lakukan pemeriksaan ke laboratorium, jika memerlukan waktu untuk pemeriksaan usahakan suhu penyimpanan tetap berada pada kondisi yang konstan -20°C .

4.6.5. Pengukuran Hasil Penelitian dengan cara :

4.6.5.1. Langkah kerja pengukuran hasil kadar *Malondyaldehyde* (MDA), yaitu :

Alat dan Bahan :

- a. Darah \pm 3 ml
- b. TCA 5%
- c. Na Thio Barbituric Acid
- d. Standar MDA

Cara Kerja :

Darah di centrifuge, kemudian pisahkan serumnya.

Siapkan tabung sesuai prosedur berikut :

REAGEN	BLANKO	STANDARD	SAMPEL (1,2 DST)
Aquades	0,5 ml	-	-
Standard	-	0,5 ml	-
Serum Sampel	-	-	0,5 ml
Tambahkan masing-masingnya 2,5 ml TCA 5 %			
Campur dengan menggunakan vortex mixer			
Centrifuge selama 10 menit, dengan kecepatan 2000 RPM			
Pipet masing-masing 1,5 ml filtratnya, masukkan ke dalam tabung sesuai dengan labelnya.			
Tambahkan masing-masing 1,5 ml Na Thio Barbituric Acid			
Campur dengan menggunakan vortec mixer			
Panaskan dalam Water Bath mendidih selama 30 menit			
Dinginkan			

Baca Absorban dengan Spektrofotometer pada λ 550 nm

$$\text{Kadar MDA sampel} = \frac{\text{Absorban Sampel} \times C. \text{ Standard}}{\text{Absorban Standar}}$$

4.6.5.2. Prosedur pembuatan sediaan histologi

Prosedur pembuatan sediaan histologi paru berdasarkan penelitian Aji (2007) adalah sebagai berikut :

a. Sampling

Organ yang diambil adalah paru.

b. Fiksasi

Seluruh organ dimasukkan dalam cairan fiksatif *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10 %, setelah dua hari organ mengeras. Potongan jaringan berukuran 2x2x1 cm dimasukkan kembali ke dalam BNF 10% selama 3x 24 jam, kemudian potong tipis dengan ketebalan sama, lalu dimasukkan ke dalam *kaset* dan siap diproses dalam *Tissue Processor*.

c. Pencetakan Jaringan

Setelah organ terfiksasi dilanjutkan dehidrasi dengan menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat dengan memasukkan organ paru dalam alkohol 70% selama 2 jam. Selanjutnya sampel dipotong kecil dan dimasukkan ke dalam *tissue basket* serta diberi label. Potongan jaringan dalam *tissue basket* selanjutnya di proses dalam *tissue processor* untuk didehidrasi dengan alkohol bertingkat (80%, 90% dan 95%) selama 6 jam kemudian direndam dalam alkohol absolut I, II, III masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya potongan jaringan

dijernihkan dengan *xylol* I dan II selama masing-masing 2 jam. Potongan jaringan kemudian diinfiltrasi dengan parafin yang terdapat pada *tissue processor*, dilanjutkan dengan pencetakan organ dengan memasukkan potongan jaringan dengan media parafin.

d. *Embedding*

Parafin cair dimasukkan dalam cetakan (setengah dari volume cetakan), kemudian dimasukkan potongan jaringan sampai menyentuh dasar cetakan, lalu cetakan dipenuhi dengan parafin cair.

e. *Pemotongan*

Setelah cetakan jaringan dalam parafin beku, blok jaringan dapat dipotong menggunakan *rotary microtom* dengan ketebalan 4-5 μ . Hasil pemotongan diletakkan di atas permukaan air hangat (40°C) hingga kerutan-kerutannya hilang. Setelah itu diletakkan pada gelas objek lalu di simpan dalam inkubator selama satu malam dengan suhu 56°C.

f. *Pewarnaan Hematoksilin Eosin*

Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) diawali dengan : deparafinisasi dari jaringan ke dalam larutan *xylol* III, II, I alkohol absolut I, II, III, 95%, 90%, 80%, 70% lalu dimasukkan ke dalam air kran selama 10 menit dan dibilas dengan akuades selama 5 menit. Jaringan diwarnai dengan Hematoksilin selama 1 menit kemudian direndam kembali ke dalam air kran selama 10 menit dan dibilas dengan akuades selama 30-60 detik. Jaringan kemudian diwarnai dengan Eosin selama 2 menit dan direndam dengan akuades selama 5 menit. Setelah diwarnai dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat, alkohol 70%, 80%,

90%, 95%, absolut I, II, III dilanjutkan dengan *clearing* dengan *xylol* I, II dan III, dan di-*mounting* dengan entelan dan ditutup dengan *cover glass*.

4.6.5.3. Prosedur pengukuran derajat kerusakan paru

Prosedur pengukuran derajat kerusakan paru berdasarkan penelitian Indah dkk (2015), dimana gambaran mikroskopis pada paru dilakukan dengan menilai derajat kerusakan alveolus menggunakan kriteria Hansel dan Barnes dengan mengamati oedema alveolus, destruksi septum interalveolar, dan serbukan sel radang. Pengamatan dari masing-masing preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dalam 5 lapangan pandang yang dilihat pada keempat bagian sudut dan bagian tengah preparat pada pembesaran 400 x.

Tabel 1. Kriteria Penilaian Derajat Kerusakan Alveolus menurut Hansel dan Barnes.

Kriteria	Keterangan	Nilai Variasi
Normal	Tidak terdapat kerusakan histologis	0
Kerusakan Ringan	Kerusakan Alveolus paru >0% - <30% dari seluruh lapangan pandang	1
Kerusakan Sedang	Kerusakan Alveolus paru >30% - 60% dari seluruh lapangan pandang	2
Kerusakan Berat	Kerusakan Alveolus paru >60% dari seluruh lapangan pandang	3

Tabel 2. Skoring Derajat kerusakan paru ditentukan dengan adanya oedema alveolus, destruksi dinding alveoli, dan infiltrasi radang.

Oedema Alveolus	Destruksi septum alveolus	Infiltrasi sel radang
Dengan skoring : 0 = tidak terjadi perubahan struktur histologis	Dengan skoring : 0 = tidak terjadi perubahan struktur histologis	Dengan skoring : 0 = tidak terjadi perubahan struktur histologis
1= oedema pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapangan pandang	1= destruksi septum alveolar kurang dari sepertiga dari seluruh lapangan pandang	1= infiltrasi sel radang kurang dari sepertiga dari seluruh lapangan pandang
2= oedema pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapangan pandang	2= destruksi septum alveolar pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapangan pandang	2 = infiltrasi sel radang pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapangan pandang
3= oedema pada lebih dari dua pertiga dari seluruh lapangan pandang	3= destruksi septum alveolar lebih dari dua pertiga dari seluruh lapangan pandang	3= infiltrasi sel radang lebih dari dua pertiga dari seluruh lapangan pandang

4.7. Pengumpulan Data dan Pengolahan Data

4.7.1. Pengumpulan Data

Data hasil penelitian dikumpulkan dalam lembar observasi sebagai petunjuk teknis pelaksanaan intervensi yang meliputi kode sampel, pemberian vitamin C dengan masing-masing dosis yang berbeda. Pengumpulan data hasil penelitian ini akan dilakukan oleh penulis dan instruktur laboratorium terkait, dengan bimbingan dan arahan laboran.

4.7.2. Pengolahan Data

Setelah pengumpulan data hasil penelitian, selanjutnya dilakukan proses pengolahan data dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. *Editing*

Langkah ini ditujukan untuk meneliti kembali apakah isian pada lembar observasi telah cukup baik dan dapat segera diproses lebih lanjut. Proses ini dilakukan di tempat pengumpulan data sehingga jika terdapat kesalahan dapat segera diperbaiki.

2. *Coding*

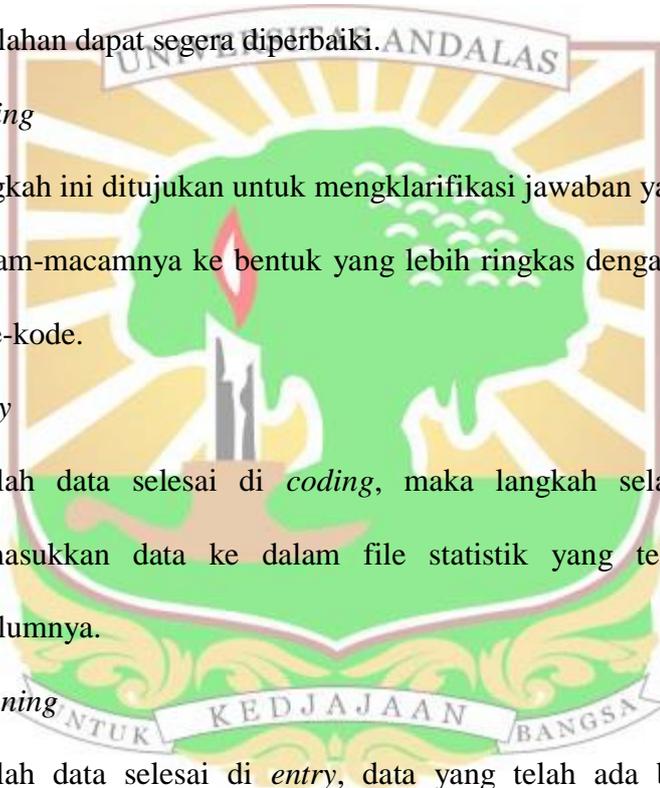
Langkah ini ditujukan untuk mengklarifikasi jawaban yang ada menurut macam-macamnya ke bentuk yang lebih ringkas dengan menggunakan kode-kode.

3. *Entry*

Setelah data selesai di *coding*, maka langkah selanjutnya adalah memasukkan data ke dalam file statistik yang telah dipersiapkan sebelumnya.

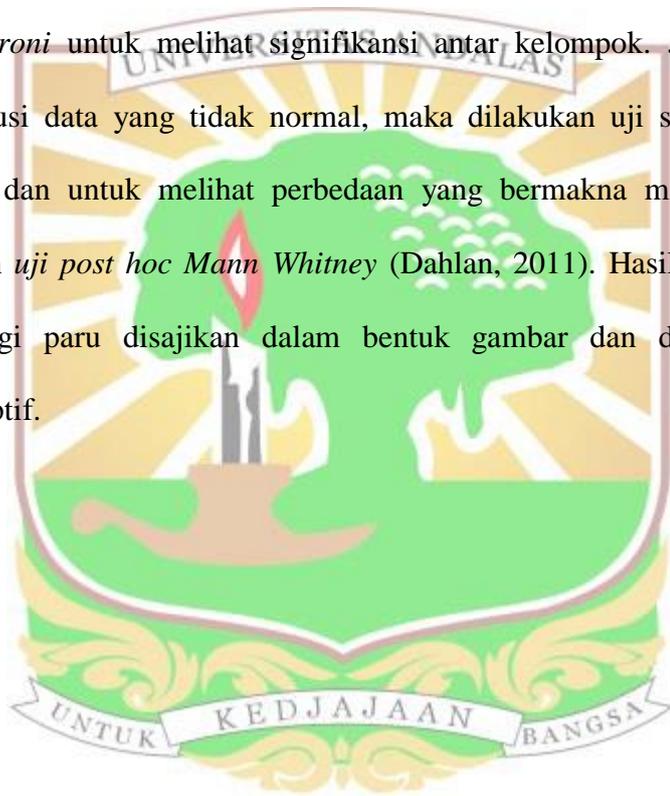
4. *Cleaning*

Setelah data selesai di *entry*, data yang telah ada belum langsung dianalisis. Data tersebut dipastikan terlebih dahulu bebas dari kesalahan sehingga tidak ada data yang *missing*. Langkah ini dapat dilakukan secara manual dengan membuat terlebih dahulu distribusi frekuensi dan *cross* tabulasi lalu dicek konsistensi antar variabel.

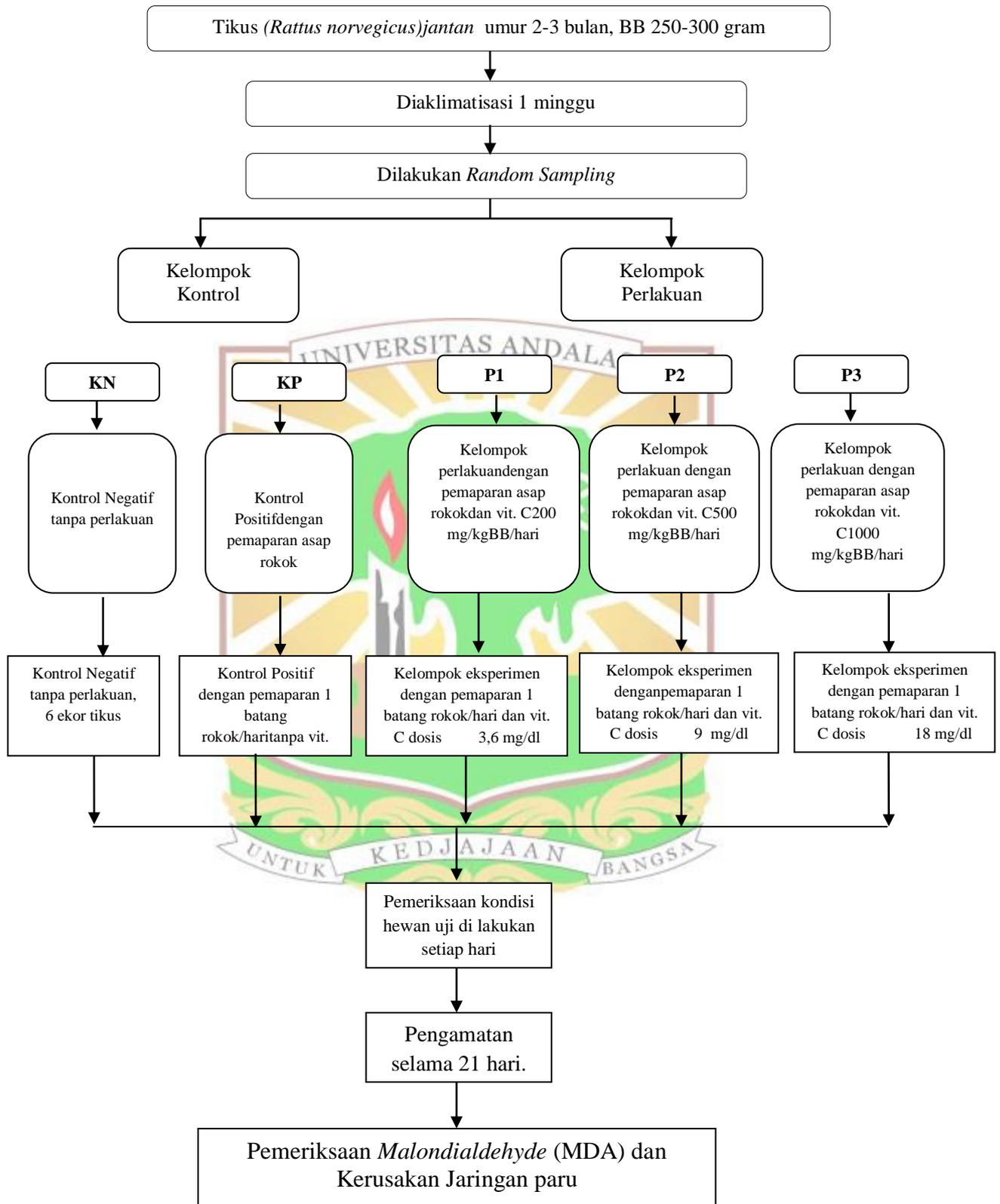


4.8. Analisis Data

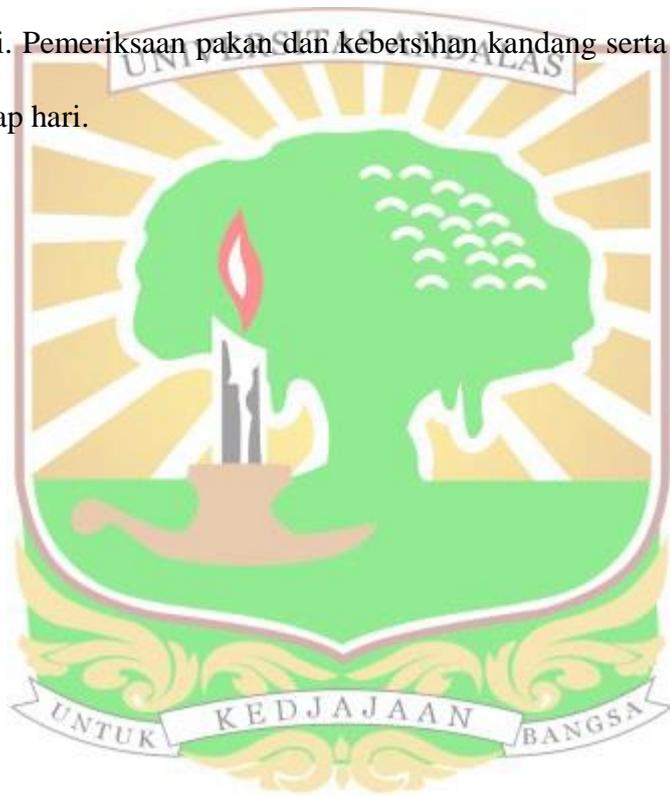
Data kadar *Malondialdehyde* (MDA) yang didapatkan selanjutnya dilakukan uji normalitas data dengan *Shapiro Wilk*. Bila nilai $p > 0,05$ maka data berdistribusi normal. Untuk menganalisis pengaruh vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) digunakan metode *Uji ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% dimana nilai $p < 0,05$ (signifikan), kemudian dilanjutkan dengan uji *statistic multiple (post hoc test)* jenis *Bonferroni* untuk melihat signifikansi antar kelompok. Jika didapatkan distribusi data yang tidak normal, maka dilakukan uji statistik *Kruskal wallis* dan untuk melihat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan *uji post hoc Mann Whitney* (Dahlan, 2011). Hasil dari gambaran histologi paru disajikan dalam bentuk gambar dan dianalisa secara deskriptif.



4.9. Alur Pelaksanaan Penelitian



Setelah dilakukan pemilihan sampel, tikus terlebih dahulu diaklimatisasi selama satu minggu agar dapat melakukan adaptasi pada areal percobaan dan tidak mengalami stres akibat perubahan tersebut. Setelahnya dilakukan pemisahan tikus kedalam lima kelompok, 1 kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan intervensi sama sekali, 1 kelompok kontrol positif dipapari asap rokok tanpa diberi vitamin C, dan kelompok 3 kelompok masing masing dipapari asap rokok dan diberikan VitaminC dengan dosis 3,6 mg/ dl, 9 mg/dl dan 18 mg/dl perhari selama 21 hari. Pemeriksaan pakan dan kebersihan kandang serta kesehatan tikus dilakukan setiap hari.



BAB V HASIL PENELITIAN

Pengambilan dan perlakuan terhadap sampel dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan pembuatan sediaan histologi paru di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas pada bulan September 2017 - Mei 2018. Hewan coba terdiri dari 5 kelompok, 1 kelompok kontrol negatif (-) yang hanya diberikan makan dan minum secara *ad libitum*, 1 kelompok kontrol positif (+) hanya diberikan paparan asap rokok dan 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok P1 yang diberi paparan asap rokok dan vitamin C 3,6 mg, kelompok P2 yang diberi paparan asap rokok dan vitamin C 5,4 mg, dan kelompok P3 yang diberi paparan asap rokok dan vitamin C 9 mg.

5.1 Rata-rata Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pada Darah Tikus dengan Beberapa Perlakuan

Setelah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian Vitamin C terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan tingkat kerusakan jaringan paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar asap rokok, maka dilakukan pengukuran kadar MDA, dengan hasil pada tabel 5.1 :

Tabel 5.1 Rata-rata kadar *Malondialdehyde* (MDA) Tikus Putih Jantan yang Dipapar Asap Rokok

Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA (nmol/ ml)
Kontrol Positif	4,65
Perlakuan 1	4,13
Perlakuan 2	3,12
Perlakuan 3	2,25

Pada tabel 5.1 dapat dilihat semakin tinggi dosis vitamin C pada perlakuan maka kadar *Malondyaldehyde* (MDA) semakin menurun. Kadar *Malondyaldehyde* (MDA) paling tinggi terdapat pada perlakuan kontrol positif dibandingkan perlakuan lainnya dengan nilai 4,65 nmol/ml. Pada perlakuan 1 didapatkan rata-rata kadar *Malondyaldehyde* (MDA) 4,13 nmol/ml, lebih tinggi dibanding perlakuan 2 dengan nilai rata-rata 3,12 nmol/ml dan perlakuan 3 dengan nilai rata-rata 2,25 nmol/ml.

5.2 Uji Normalitas Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pada Darah Tikus dengan Beberapa Perlakuan

Setelah dilakukan pengukuran kadar MDA selanjutnya dilakukan uji normalitas *Shapiro Wilk* kemudian dilanjutkan dengan uji statistik *Anova* dengan derajat kepercayaan 95% selanjutnya dilakukan uji statistik *Multipe Comparisons (pos hoc test)* jenis *Bonnferroni*.

Nilai kadar MDA pada masing-masing kelompok perlakuan kemudian dilakukan uji normalitas untuk melihat distribusinya pada masing-masing variabel. Dari uji normalitas terhadap kadar MDA data terdistribusi normal ($p > 0.05$) dan memiliki karakteristik sebagai berikut :

Tabel 5.2 Uji Normalitas Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Tikus Putih Jantan yang Dipapar Asap Rokok

Kadar MDA (nmol/ ml)	\pm SD	<i>p</i>
(Mean)	3,31 \pm 1,356	0,59*

*Distribusi data normal ($p > 0,05$)

Pada tabel 5.2 didapatkan hasil uji normalitas kadar *Malondyaldehyde* (MDA) $p > 0,05$ menunjukkan bahwa kadar *Malondyaldehyde* (MDA) terdistribusi normal ($p = 0,59$). Selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk melihat perbedaan

antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dengan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok kontrol dan perlakuan :

Tabel 5.3 Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus Putih Jantan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (n = 25)

No	Kelompok	n	Kadar MDA (nmol/ml) Mean + SD	p
1	Kontrol Negatif	5	2,38 ± 0,87	0,005*
2	Kontrol Positif	5	4.64 ± 0,80	
3	Perlakuan 1	5	4,12 ± 1,69	
4	Perlakuan 2	5	3,12 ± 0,62	
5	Perlakuan 3	5	2,24 ± 1,35	

*Terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Tabel 5.3 dapat dilihat terjadi penurunan rata-rata kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol positif. Pada tabel dapat dilihat *mean* kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna, dimana kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok kontrol negatif $2,38 \pm 0,87$ nmol/ml, kelompok kontrol positif $4.64 \pm 0,80$ nmol/ml, perlakuan 1 yaitu $4,12 \pm 1,69$ nmol/ml, perlakuan 2 yaitu $3,12 \pm 0,62$ nmol/ml dan perlakuan 3 yaitu $2,24 \pm 1,35$ nmol/ml. Secara uji statistik menunjukkan perbedaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan $p < 0,05$.

Untuk melihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dapat dilihat dengan menggunakan uji Multiple Comparisons (*post hoc test*) jenis Bonferroni, dengan hasil pada tabel 5.4 :

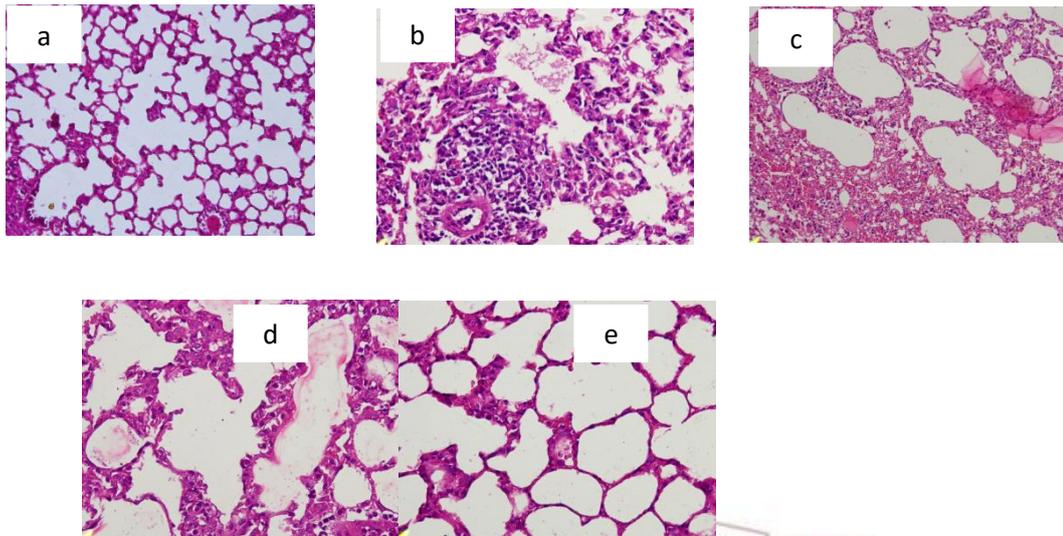
5.4 Tingkat Kemaknaan Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar Malondyaldehyde (MDA) Tikus Putih Jantan yang Dipapar Asap Rokok Pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Kelompok	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Kontrol Positif	-	0,02*	0,15	1,00	1,00
Kontrol Negatif	0,02*	-	1,00	0,31	0,01*
Perlakuan 1	0,15	1,00	-	1,00	0,98
Perlakuan 2	1,00	0,31	1,00	-	1,00
Perlakuan 3	1,00	0,01*	0,98	1,00	-

Pada tabel 5.4 diatas dapat dilihat tidak semua perlakuan terdapat hubungan yang bermakna. Pada tabel menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif terhadap kelompok kontrol negatif dan sebaliknya, antara kelompok kontrol negatif dengan perlakuan 3, antar perlakuan 3 dan kontrol negatif dimana $p < 0,05$. Data ini menunjukkan terdapat perbedaan perlakuan yang diberikan paparan asap rokok saja dengan tanpa diberi perlakuan dan pemberian Vitamin C dosis 500 mg (perlakuan 2) terhadap kadar *Malondyaldehyde* (MDA) tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.

5.5 Tingkat Kerusakan Jaringan Paru Pada Tikus Putih Jantan yang Dipapar Asap Rokok dengan Beberapa Perlakuan

Preparat organ paru dengan pewarnaan *Hematoksililin Eosin* (HE) menunjukkan perbandingan kerusakan organ paru ditandai dengan adanya edema paru, infiltrasi sel radang dan destruksi septum. Hasil pemeriksaan kerusakan jaringan paru dapat dilihat pada gambar 1 berikut :



Gambar1. Hasil Pewarnaan HE pada preparat paru tikus dengan perbesaran 200x dan 400x.

Keterangan : a). Kontrol negatif b). Kontrol Positif c). Perlakuan 1 d). Perlakuan 2 e). Perlakuan 3

Karakteristik kerusakan jaringan paru berdasarkan kriteria kerukan disajikan pada tabel 5.4 berikut :

Tabel 5.4 Rata-rata tingkat kerusakan jaringan paru Tikus dengan Beberapa Perlakuan

No	Kelompok	Gambaran Kerusakan Paru	Kriteria Kerusakan
1	Kontrol Negatif	Kerusakan Ringan	1
2	Kontrol Positif	Kerusakan Sedang	2
3	Perlakuan 1	Kerusakan Sedang	2
4	Perlakuan 2	Kerusakan Ringan	1
5	Perlakuan 3	Kerusakan Ringan	1

Tabel 5.5 diatas dapat dilihat terjadi kerusakan jaringan paru dengan kriteria kerusakan ringan dan kerusakan sedang. Pada kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 2, perlakuan 3 terdapat kerusakan ringan sedangkan kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1 terdapat kerusakan sedang. Gambaran mikroskopis kerusakan jaringan paru dapat dilihat pada : (Lampiran 9).

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Dipapar Asap Rokok

Setelah dianalisis dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus jantan yang dipapar asap rokok. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) kelompok kontrol positif (paparan rokok 1 batang perhari) berbeda secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif, begitu juga dengan kelompok kontrol negatif dengan perlakuan 3 dan sebaliknya. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada perlakuan 1 (200mg/ hari), tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok perlakuan 2 (500mg/ hari) artinya pemberian paparan asap rokok 1 batang per hari dan dosis vitamin C pada perlakuan 1 dan perlakuan 2 belum memberi pengaruh terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan tetapi memberi pengaruh pada perlakuan 3. Peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada darah akibat asap rokok menimbulkan ROS sehingga dapat menyebabkan stres oksidatif melalui mekanisme perusakan lipid membran sel. Radikal lipid yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal lipid peroksida serta *Malondialdehyde* (MDA) yang larut dalam air sehingga dapat dideteksi dalam darah (Devlin, 2000).

Kadar MDA yang tinggi akibat peroksidasi lipid dapat meningkatkan permeabilitas endotel, yang menyebabkan hemokonsentrasi dan peningkatan hematokrit, trigliserida dan akibatnya, dapat meningkatkan viskositas darah,

melalui kerusakan oksidatif pada eritrosit. Peroksidasi lipid dapat meningkatkan reaksi fase akut dengan meningkatkan interaksi endotel / monosit dan pelepasan sitokin seperti IL-6, yang merupakan mediator kunci dari reaksi inflamasi termasuk peningkatan jumlah sel darah putih, fibrinogen dan protein C-reaktif (Sannapha, *et al.*, 2015). Dalam penelitian Scorvita (2014) disampaikan bahwa radikal bebas yang dihasilkan oleh rokok akan mengganggu sistem pertahanan antioksidan dan menimbulkan stres oksidatif dalam tubuh dan mengakibatkan gangguan fisiologis tubuh. Diperkirakan dalam setiap hisapan menghasilkan bahan oksidan dalam jumlah yang sangat besar meliputi *aldehida*, *epoksida* dan radikal bebas yang bertahan lama dalam tubuh yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein dan DNA, dan berakibat fatal bagi kelangsungan hidup sel dan jaringan tubuh.

Status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA) (Galano, 2015). Peningkatan *Malondialdehyde* (MDA) akibat radikal bebas dapat dicegah dengan pemberian antioksidan. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Sannapha, *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa Vitamin C adalah antioksidan larut air yang kuat karena dengan menyumbangkan elektronnya dapat mencegah senyawa lain dari oksidasi. Spesies yang terbentuk setelah kehilangan satu elektron adalah radikal bebas, asam *semidehydroascorbic* atau radikal *ascorbonyl*, radikal bebas yang reaktif dan mungkin berbahaya. Banyak penelitian menunjukkan rendahnya konsentrasi plasma vitamin C pada perokok dan pasien infark miokard akut (AMI). Pemberian Vitamin C pada perokok dan pasien infark miokard akut (AMI) memberikan perbedaan bermakna pada kadar *Malondialdehyde* (MDA) dibandingkan dengan non perokok.

6.2 Gambaran Kerusakan Jaringan Paru dengan Beberapa Perlakuan

Pemeriksaan gambaran kerusakan jaringan paru didapatkan edema paru, infiltrasi sel radang dan destruksi septum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian vitamin C terhadap keparahan kerusakan jaringan paru dengan kriteria kerusakan ringan, sedang dan berat. Kerusakan jaringan paru yang dipapar asap rokok (Gambar 1.b) menunjukkan adanya infiltrasi sel radang, edema paru dan destruksi septum yang lebih banyak dibandingkan perlakuan kontrol positif (Gambar 1.a).

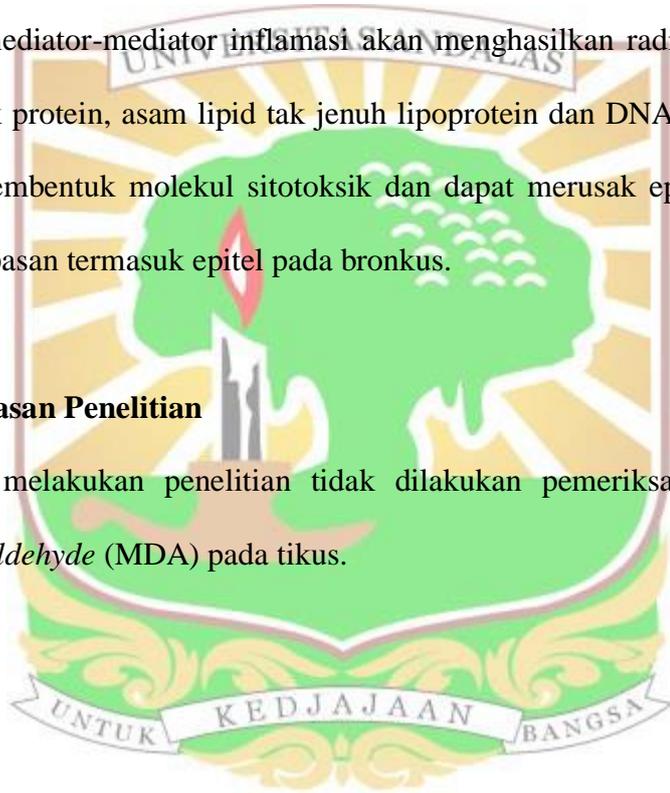
Kerusakan jaringan paru pada tikus perlakuan kontrol positif (Gambar 1.a) menunjukkan kerusakan paling besar dibanding dengan perlakuan lainnya. Hal ini membuktikan bahwa paparan asap rokok memberikan efek buruk pada jaringan paru dibandingkan dengan perlakuan kelompok yang beri anti oksidan mampu mengurangi kerusakan jaringan paru. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Palmans (2002) menunjukkan bahwa paparan alergen secara berkelanjutan dan terus menerus dapat merangsang terjadinya inflamasi pada saluran nafas yang berakibat terjadinya *remodeling* jalan nafas ditandai dengan adanya perubahan struktur sel.

Kerusakan epitel pada saluran pernafasan terjadi akibat adanya inflamasi yang mengakibatkan dilepaskannya beberapa macam mediator yang dapat mengaktifasi sel target di saluran nafas. Kerusakan epitel yang terjadi akibat adanya mediator inflamasi yaitu *eosinophil* yang dilepaskan pada saat proses inflamasi, kebocoran mikrovaskular, hipersekresi mukus dan adanya radikal bebas reaktif yang dapat merusak membran biologis penyusun sel-sel epitel (Christina, 2008).

Pelepasan beberapa mediator inflamasi seperti histamin, bradikinin, dan leukotrin dapat menyebabkan kontraksi sel endotel sehingga terjadi ektravavasi makromolekul. Barnes (1989) menjelaskan bahwa terjadinya ektravavasi makromolekul merupakan mekanisme terjadinya kebocoran mikrovaskuler yang terjadi pada pembuluh darah venula akhir kapiler. Kebocoran mikrovaskuler mengakibatkan edema saluran napas sehingga terjadi pelepasan epitel, diikuti penebalan submukosa. Proses inflamasi yang mengaktifasi sel-sel inflamasi dan melepaskan mediator-mediator inflamasi akan menghasilkan radikal bebas yang dapat merusak protein, asam lipid tak jenuh lipoprotein dan DNA. Radikal bebas juga dapat membentuk molekul sitotoksik dan dapat merusak epitel-epitel pada saluran pernapasan termasuk epitel pada bronkus.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Sebelum melakukan penelitian tidak dilakukan pemeriksaan awal kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus.



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Kadar rata-rata *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok kontrol negatif adalah 2,40 nmol/ml dengan kerusakan paru ringan.
2. Kadar rata-rata *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok kontrol positif adalah 4,65 nmol/ml dengan kerusakan paru sedang.
3. Terdapat pengaruh pemberian vitamin C terhadap penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok perlakuan 3 dengan nilai kadar *Malondialdehyde* (MDA) 2,25 nmol/ml dan mengurangi kerusakan jaringan paru dengan hingga kriteria kerusakan ringan.

7.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan pemeriksaan awal *Malondialdehyde* (MDA) untuk melihat tingkat penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA).
2. Penggunaan antioksidan vitamin C secara teratur sebagai penangkal radikal bebas dapat digunakan untuk menurunkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan kerusakan jaringan paru.