

**UJI EFEK PROTEKTIF DEHYDROEPIANDROSTERONE  
(DHEA) TERHADAP AKTIVITAS PEROKSIDASI LIPID  
OTAK TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI ASAP ROKOK**

**THE PROTECTIVE EFFECTS OF  
DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) AGAINST  
LIPID PEROXIDATION IN RAT BRAIN INDUCED BY  
CIGARETTE SMOKE**

Disusun dan diajukan oleh

**A. AYATULLAH JASKIDAS  
N011 18 1014**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**UJI EFEK PROTEKTIF DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) TERHADAP  
AKTIVITAS PEROKSIDASI LIPID OTAK TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI  
ASAP ROKOK**

**THE PROTECTIVE EFFECTS OF DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA)  
AGAINST LIPID PEROXIDATION IN RAT BRAIN INDUCED BY  
CIGARETTE SMOKE**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**A. AYATULLAH JASKIDAS**

**N011 18 1014**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**UJI EFEK PROTEKTIF DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA)  
TERHADAP AKTIVITAS PEROKSIDASI LIPID OTAK TIKUS JANTAN  
YANG DIINDUKSI ASAP ROKOK**

**A. AYATULLAH JASKIDAS**

**N011 18 1014**

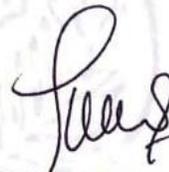
Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Yulia Yusrini Djibir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt  
NIP. 19780728 200212 2 003



dr. M. Aryadi Arsyad, M.Biom.Sc., Ph.D.  
NIP. 19760820 200212 1 003

Pada Tanggal, 28 Juni 2022

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**UJI EFEK PROTEKTIF DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) TERHADAP  
AKTIVITAS PEROKSIDASI LIPID OTAK TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI  
ASAP ROKOK**

Disusun dan diajukan oleh:

**A. AYATULLAH JASKIDAS**

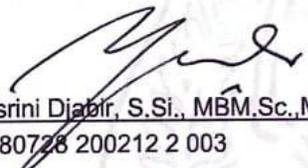
**N011 18 1014**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 20 Juni 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

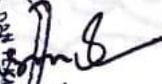
Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

  
Yulia Yusrini Djafir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt  
NIP. 19780728 200212 2 003

  
dr. M. Aryadi Arsyad, M.Biom.Sc., Ph.D  
NIP. 19760820 200212 1 003

Ketua Program Studi S1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
  
  
Nurhasanah, S.Si., M.Si, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : A. Ayatullah Jaskidas

Nim : N011 18 1014

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan Judul Uji Efek Protektif Dehydroepiandrosterone (DHEA) Terhadap Aktivitas Peroksidasi Lipid Otak Tikus Jantan Yang Diinduksi Asap Rokok adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta lain. Apabila dikemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 5 Juli 2022

Yang menyatakan,



A. Ayatullah Jaskidas

## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Asap Rokok	4
II.1.1 Gambaran Umum Tentang Rokok	4
II.1.2 Kandungan Asap Rokok	4
II.1.3 Mekanisme Kerja Asap Rokok	5
II.2 Dehydroepiandrosteron	7
II.2.1 Gambaran Umum	7
II.2.2 Mekanisme Kerja Dehydroepiandrosterone (DHEA)	11
II.2.2 Dosis Dehydroepiandrosterone (DHEA)	12
II.3. Peroksidasi Lipid	13

II.3.1	Gambaran Umum	13
II.3.2	Malonildialdehida (MDA)	13
II.3.3	Pengukuran Malonildialdehida (MDA)	16
II.4	Organ Otak	17
II.4.1	Anatomi Otak	17
II.4.1.1.	Otak besar (serebrum)	18
II.4.1.2.	Otak kecil (serebelum)	18
II.4.1.3.	Otak tengah (mesensefalon)	18
II.4.1.4.	Otak depan (diensefalon)	18
II.4.1.5.	Jembatan varol (pons varoli)	19
II.4.2	Fungsi Otak	19
II.4.3	Toksisitas Asap Rokok Pada Otak	19
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>		<b>23</b>
III.1	Alat dan Bahan	23
III.2	Metode Kerja	23
III.2.1	Pembuatan Sediaan Uji	23
III.2.1.1	Pembuatan Larutan Koloidal CMC 1% b/v	23
III.2.1.2	Pembuatan Suspensi DHEA	24
III.2.1.3	Pemilihan dan Perlakuan Hewan Uji	24
III.2.2.4	Perlakuan Hewan Uji	26
III.2.2.5	Pembuatan Larutan Kurva Baku	27
III.2.2.5.1	Pembuatan Larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 10%	27
III.2.2.5.2	Pembuatan Larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 1% dalam Asam	

Asetat Glasial 50%	27
III.2.2.5.3 Pembuatan Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7,4	27
III.2.2.6 Pembedahan Hewan Uji	28
III.2.2.7 Pengukuran Kurva Baku	28
III.2.2.8 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)	29
III.2.2.9 Validasi Metode	29
III.2.2.10 Analisis Data, Pembahasan, dan Kesimpulan	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
IV.1 Hasil Penelitian	32
IV.1.1 Kurva Baku	32
IV.1.2 Analisis Kadar Malondialdehida (MDA)	33
IV.1.3 Analisis Bobot Organ	34
IV.2 Pembahasan	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
V.1 Kesimpulan	41
V. 2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	51

## ABSTRAK

**A. AYATULLAH JASKIDAS.** Uji Efek Protektif Dehydroepiandrosterone (DHEA) Terhadap Aktivitas Peroksidasi Lipid Otak Tikus Jantan Yang Diinduksi Asap Rokok

Asap rokok dapat membentuk radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif pada otak. Dehydroepiandrosterone (DHEA) diketahui memiliki fungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap aktivitas peroksidasi lipid jaringan otak tikus wistar jantan yang terpapar asap rokok selama 14 hari. Sebanyak 28 ekor tikus putih jantan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan: kelompok kontrol sehat, kelompok kontrol negative (plasebo), kelompok DHEA 15 mg/kgBB, dan kelompok DHEA 30 mg/kgBB. Kelompok plasebo dan kelompok DHEA diberikan asap rokok (4 batang) setiap hari selama 30 menit dalam chamber. Pemberian DHEA dilakukan 30 menit sebelum paparan asap rokok selama 14 hari. Pada hari ke-15 dilakukan pemeriksaan kadar MDA otak dengan metode Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS). Hasil menunjukkan tikus yang hanya diberikan paparan asap rokok mengalami peningkatan kadar MDA otak jika dibandingkan tikus normal ( $p < 0,05$ ), sebesar  $1.2174 \pm 0.1532 \mu\text{g/ml}$ . Kelompok pemberian DHEA 15 mg/kgBB memiliki rata-rata kadar MDA otak  $0.5947 \pm 0.0672 \mu\text{g/ml}$  dan dan DHEA 30 mg/kgBB sebesar  $1.0635 \pm 0.0706 \mu\text{g/ml}$ . Hasil statistik menunjukkan penurunan kadar MDA hanya signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan pemberian DHEA 15 mg/kgBB. Sehingga dapat disimpulkan pemberian DHEA dengan dosis 15 mg/kgBB selama 14 hari mampu memproteksi peningkatan kadar MDA otak tikus akibat paparan asap rokok.

Kata kunci : Rokok, *dehydroepiandrosterone*, Antioksidan, Peroksidasi Lipid

## ABSTRACT

**A. AYATULLAH JASKIDAS,** The Protective Effects Of Dehydroepiandrosterone (DHEA) Against Lipid Peroxidation In Rat Brain Induced By Cigarette Smoke

Cigarette smoke can form free radicals that causes oxidative stress in the brain. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is known to act as an antioxidant. This study aimed to determine the protective effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on lipid peroxidation activity of brain tissue of rats exposed to cigarette smoke for 14 days. A total of 28 male white rats were divided into 4 treatment groups: healthy control, negative control (placebo), 15 mg/kgBW DHEA, and 30 mg/kgBW DHEA groups. The placebo and the DHEA groups were exposed to cigarette smoke (4 sticks) every day for 30 minutes in a smoke chamber. DHEA was given 30 minutes before exposure to cigarette smoke for 14 days. On the 15th day, brain MDA levels were examined using the Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) method. The results showed that rats that were only exposed to cigarette smoke experienced an increase in brain MDA levels ( $1.2174 \pm 0.1532$   $\mu\text{g/ml}$ ) when compared to normal rats ( $p < 0.05$ ). The group given DHEA 15 mg/kgBW had an average brain MDA level of  $0.5947 \pm 0.0672$   $\mu\text{g/ml}$  and DHEA 30 mg/kgBW of  $1.0635 \pm 0.0706$   $\mu\text{g/ml}$ . Statistical analysis showed that the decrease in MDA levels was only significant ( $p < 0.05$ ) with the administration of 15 mg/kgBW of DHEA. Therefore, it can be concluded that the administration of DHEA at a dose of 15 mg/kgBW for 14 days was able to protect the increase in MDA levels in the brains of rats due to exposure to cigarette smoke.

Keywords: Cigarettes, dehydroepiandrosterone, Antioxidants, Lipid Peroxidation

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Perilaku merokok penduduk Indonesia diusia  $\geq 15$  tahun mengalami peningkatan dari tahun sebelumnya 34,4 % menjadi 36,3 %, sedangkan pada tahun 2018 mengalami penurunan dari tahun sebelumnya yaitu 33,8% (Riskesdas, 2018). Hal ini menjadi kekhawatiran tersendiri karena pembakaran rokok membuat kandungan bahan kimia berbahaya dalam asap rokok terhirup dan membentuk radikal bebas dalam tubuh (Hidayah dkk., 2020).

Radikal bebas yang terbentuk dari asap rokok berikatan dengan oksigen dan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) (Angelis et al., 2014). Sel otak atau neuron sangat sensitif terhadap ROS, karena komposisi biokimia dari neuron terdiri dari asam lemak yang tinggi sehingga rentan terjadi peroksidasi lemak dan modifikasi oksidatif. Ikatan ganda dari asam lemak tak jenuh merupakan target dari radikal bebas sehingga menstimulasi kaskade kerusakan asam lemak disekitarnya. Membran lipid yang mengalami oksidasi menghasilkan produk berupa malondialdehida (MDA) dan 4 hydroxynonenal (4-HNE) yang toksik terhadap neuron (Antara, 2018). Oleh karena itu, terjadinya stres oksidatif dapat diindikasikan oleh tingginya kadar MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid (Firi, et al., 2019).

Dalam kondisi stres oksidatif yang meningkat akibat asap rokok, dibutuhkan tambahan antioksidan dari luar tubuh sebagai penyeimbang meningkatnya radikal bebas. *Dehydroepiandrosterone* (DHEA) merupakan salah satu hormon steroid endogen (Kouti et al., 2019) yang terlibat dalam sejumlah tindakan biologis pada manusia dan rodensia (Parmegiani et al., 2011). Pemberian DHEA secara eksogen dapat memberikan efek ganda baik bersifat antioksidan maupun pro-oksidan, tergantung pada dosis yang diberikan dan jaringan spesifik (Abdelazeim et al., 2020). Manfaat DHEA sebagai antioksidan telah dibuktikan dalam dosis 15-30 mg/kg selama 10-14 hari, dimana DHEA mampu menekan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan malondialdehid (MDA) pada organ hati pada berbagai model hewan coba seperti mencit dan tikus (Abd-Ella E.M. et.al, 2020; Bhuiyan et al, 2010).

Walaupun telah diketahui bahwa efek DHEA dapat menangkal radikal bebas, tetapi pengaruhnya terhadap lipid peroksidasi otak dengan paparan asap rokok masih belum banyak dilakukan. Atas dasar inilah peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai efek protektif *dehydroepiandrosterone* (DHEA) pada otak tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok secara subakut (14 hari).

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah *dehydroepiandrosterone* (DHEA) dapat memberikan efek protektif terhadap peroksidasi lipid jaringan otak tikus wistar jantan yang terpapar asap rokok selama 14 hari?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap aktivitas peroksidasi lipid jaringan otak tikus wistar jantan yang terpapar asap rokok selama 14 hari.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Asap Rokok**

##### **II.1.1 Gambaran Umum Tentang Rokok**

Merokok adalah penyebab tunggal terbesar dari kematian dini di negara-negara maju yang dapat dihindari dan bertanggung jawab atas 18,5% dari semua kematian. WHO menyatakan bahwa 5,4 juta kematian dini disebabkan oleh merokok tembakau di seluruh dunia dan jika ini terus berlanjut maka 10 juta perokok per tahun diperkirakan akan meninggal pada tahun 2025 (Fagerstrom, 2014).

##### **II.1.2 Kandungan Asap Rokok**

Asap rokok mengandung lebih dari 7000 zat kimia beracun dalam bentuk gas dan partikel yang bersifat karsinogen, mutagen, antigenik dan sitotoksik (Firi et al., 2019; Kosmider et al., 2011). Campuran racun dan karsinogenik ini mungkin merupakan sumber paling signifikan dari paparan bahan kimia beracun dan penyakit yang dimediasi secara kimia pada manusia (Talhout et al., 2011). Sebagian besar bahan atau senyawa-senyawa tersebut bersifat toksik bagi berbagai macam sel dalam tubuh kita. Substansi toksik dalam bentuk gas, yaitu berupa karbon monoksida (CO), hidrogen sianida (HCN), dan oksida nitrogen. Sedangkan substansi toksik dalam bentuk zat kimia yang volatil seperti nitrosamin, formaldehid banyak

terdapat dalam asap rokok. Zat-zat ini dapat memberikan efek toksiknya dengan mekanisme spesifik dan pada sel-sel atau unit-unit makromolekuler sel tertentu terutama pada sistem pernapasan.

Asap rokok adalah aerosol kimia kompleks yang terdiri dari partikulat tersuspensi dalam fase gas. Fase partikel mengandung konstituen penting asap rokok, seperti tar, nikotin, hidrokarbon aromatik, fenol dan kresol. Ukuran rata-rata partikel tersebut adalah 0,1 – 0,5  $\mu$ m, sehingga mampu mencapai saluran udara kecil (Domagala-kulawik, 2018). Setiap batang rokok mengandung  $10^{14-16}$  spesies oksigen reaktif (ROS) seperti superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), radikal hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ), radikal peroksil ( $ROO^{\cdot}$ )<sup>3</sup> (Firi et al., 2019).

### **II.1.3 Mekanisme Kerja Asap Rokok**

Asap rokok adalah campuran kompleks lebih dari 4700 senyawa kimia termasuk konsentrasi tinggi oksidan dan radikal bebas yang ada dalam fase gas dan fase tar asap. Mereka yang berada dalam fase gas baik organik maupun anorganik termasuk spesies oksigen reaktif (ROS) dan radikal bebas, aldehida, peroksida dan oksida nitrogen. Asap rokok juga menghasilkan ROS secara tidak langsung dari leukosit polimorfik teraktivasi. Peningkatan produksi ROS oleh asap dapat menghasilkan kondisi stres oksidatif yang dapat mengakibatkan oksidasi lipid, induksi kerusakan untai tunggal DNA, inaktivasi protein tertentu, dan terganggunya membran biologis (Thirumalai et al., 2010).

Asap rokok merupakan sumber ROS seperti anion superoksida, radikal hidroksil, hidrogen peroksida, ion logam dan kuinon. Agen pengoksidasi ini dapat meningkatkan tingkat stres oksidatif pada perokok dengan peningkatan kandungan peroksidasi lipid dan produk degradasi protein matriks ekstraseluler. ROS yang ada dalam asap rokok bertanggung jawab atas cedera dan peradangan seluler (Hossain et al., 2021).

Asap rokok mengandung sejumlah besar oksidan yang memiliki efek buruk pada jaringan melalui kerusakan oksidatif. Diketahui bahwa asap rokok mengaktifkan sel-sel inflamasi, yang juga dapat meningkatkan produksi sel polimorfonuklear oksidan dalam jaringan, memicu stres oksidatif, patogenesis kerusakan jaringan yang diinduksi asap rokok. Efek gabungan dari kerusakan proteolitik yang lebih besar dan peningkatan kematian sel. Penelitian telah menunjukkan bahwa dalam darah perokok, serta di berbagai organ hewan yang terpapar asap rokok secara kronis, terjadi peningkatan peroksidasi lipid, karbonilasi protein, dan oksidasi DNA (Carlos et al., 2014).

Asap rokok juga merupakan salah satu dari beberapa agen dan faktor lingkungan yang dapat memicu stres oksidatif. Asap rokok menyebabkan perekrutan sel, peroksidasi lipid, produksi mediator inflamasi, dan stres oksidatif. Misalnya, penelitian pada tikus telah menunjukkan bahwa paparan asap rokok jangka pendek membangkitkan peningkatan aliran masuk sel inflamasi dan kerusakan oksidatif (Tereza et al., 2018).

Ada bukti bahwa dua faktor sentral terlibat dalam cedera langsung yang diinduksi asap rokok atau peradangan sistemik: protein kinase teraktivasi AMP terfosforilasi dan target mamalia terfosforilasi rapamycin (masing-masing p-AMPK dan p-mTOR). Satu studi baru-baru ini menunjukkan bahwa aktivasi p-AMPK menghambat atau meningkatkan peradangan, tergantung pada stimulusnya. Ada juga semakin banyak bukti bahwa, dalam banyak jenis sel, peningkatan spesies oksigen reaktif intraseluler (ROS) dapat mengaktifkan p-AMPK. Sebuah integrator utama isyarat lingkungan, mTOR mengontrol metabolisme seluler, pertumbuhan, proliferasi, dan kelangsungan hidup tergantung pada sinyal mitogenik, serta pada ketersediaan nutrisi dan energi. Sekarang menjadi jelas bahwa pensinyalan mTOR memainkan peran sentral dalam mengatur aspek dasar perilaku sel dan organisme, dan disregulasinya sangat terkait dengan perkembangan berbagai penyakit proliferasi dan metabolisme manusia, termasuk kanker, obesitas, diabetes tipe 2, dan sindrom hamartoma (Carlos et al., 2014).

## **II.2 Dehydroepiandrosteron**

### **II.2.1 Gambaran Umum**

Dehidroepiandrosteron ( $3\beta$ -hidroksil-5-androsteron-17-one, DHEA) adalah steroid adrenal C-19 alami yang berasal dari kolesterol yang disekresikan oleh kelenjar adrenal (Savineau et al., 2015). DHEA juga disekresikan oleh gonad, otak dan saluran pencernaan (Prough et al., 2016).

DHEA adalah steroid adrenal paling melimpah pada manusia dengan konsentrasi serum ester  $3\beta$ -sulfatnya (DHEA-S) kira-kira 20 kali lipat lebih tinggi dibandingkan hormon steroid lain yang bersirkulasi (Roque et al., 2013).

DHEA dan DHEA-S adalah prekursor dalam biosintesis androgen dan dimetabolisme langsung menjadi androstenedione, testosteron dan estrogen. DHEA-S menyediakan 50% androgen pada pria dan 75% estrogen pada wanita pramenopause. Selain menyediakan prekursor untuk steroid seks, DHEA berikatan langsung dengan hormon steroid dan reseptor nuklir (NRs), mengaktifkan berbagai reseptor membran dan menghambat gerbang tegangan tipe-T saluran  $Ca^{2+}$  (Prough et al., 2016). Kadar DHEA-S dalam darah sangat tinggi saat lahir dan turun drastis mendekati nol pada usia sekitar enam bulan, kemudian meningkat ke nilai puncak pada pria sekitar usia 25 tahun dan akhirnya mengalami penurunan tajam yang progresif seiring bertambahnya usia (Austin et al., 2013).

DHEA disekresikan terutama oleh zona retikularis pada korteks adrenal sebagai respon terhadap hormon adrenokortikotropin (ACTH) (Pesce et al., 2020) setiap harinya sekitar 75-90% didalam tubuh, sisanya disekresi oleh kelenjar testis dan ovarium. DHEA-S, bentuk sulfat, adalah bentuk penyimpanan hidrofilik yang bersirkulasi dalam darah. Pada pasien yang menderita insufisiensi adrenal memiliki kadar serum DHEA-S yang sangat rendah meskipun fungsi gonadnya utuh. DHEA-S dapat saling dikonversi

dengan DHEA oleh DHEA sulfotransferase dan hidroksterooid sulfatase, konversi ini terjadi di berbagai jaringan termasuk otak, hati, ginjal, dan gonad. DHEA kemudian dimetabolisme menjadi 5-androsten-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, 4-androsten-3,17-dione, testosteron, estrogen, dan steroid biologis aktif lainnya, tergantung pada jaringan (Savineau et al., 2015).

Sintesis DHEA dikendalikan oleh pensinyalan hormonal dari sumbu hipotalamus-hipofisis-adrenal. Hormon pelepas kortikotropin yang dilepaskan dari hipotalamus merangsang hipofisis anterior untuk mensintesis dan mensekresi hormon ACTH. ACTH berikatan dengan melanocortin-2 plasma membrane (PM) G-protein-coupled receptors (GPCRs) yang terletak di sel adrenokortikal dan mengaktifkan pensinyalan yang bergantung pada protein kinase A (PKA) yang bergantung pada cAMP. Pensinyalan PKA dengan cepat meningkatkan STAR untuk pengiriman kolesterol ke mitokondria dan meningkatkan ekspresi gen STAR, CYP11A1 dan CYP17A1 untuk mempertahankan peningkatan output steroid. Kadar DHEA pada orang dewasa memuncak di pagi hari dengan mengikuti pola sirkadian sekresi ACTH (Prough et al., 2016).

DHEA dapat diubah menjadi androgen lemah androstenedion atau androstenediol yang merupakan prekursor langsung dari testosteron androgen kuat (Hester et al., 2020). Metabolisme DHEA menjadi androgen aktif, termasuk testosteron dan 5-dihidrotestosteron (DHT), terjadi di gonad, hati, adrenal, dan jaringan perifer. Pada pria dengan fungsi testis normal,

kontribusi DHEA terhadap testosteron yang bersirkulasi mewakili sebagian kecil  $\leq 5\%$  dari total testosteron. Metabolisme perifer DHEA-S menghasilkan 40-75% testosteron pada wanita pramenopause sedangkan 90% estrogen pada wanita pascamenopause. Baik pria maupun wanita, DHT dan testosteron dapat dimetabolisme masing-masing menjadi estradiol (E2) atau estrone oleh aromatase (CYP19A1) (Prough et al., 2016).

Sejak penemuan DHEA dan DHEA-S selama paruh pertama abad ke-20, telah banyak publikasi berhipotesis bahwa perkembangan defisiensi DHEA seiring bertambahnya usia memainkan peran kunci dalam degradasi banyak fungsi dan berkontribusi pada beberapa gangguan, termasuk kanker dan penyakit kardiovaskular. Penelitian lain telah melaporkan peran menguntungkan DHEA-S dalam berbagai kondisi fisiologis atau patofisiologis seperti perkembangan otak, penuaan, osteoporosis, penyakit rematik yang dimediasi sistem kekebalan, diabetes mellitus (DM), obesitas, gagal jantung kronis (terutama ketika terkait dengan stres oksidatif), dan remodeling vaskular seperti yang terjadi pada hipertensi arteri pulmonal (Mannic et al., 2015). DHEA juga memiliki efek protektif terhadap disfungsi endotel yang diinduksi stress oksidatif pada tikus diovariectomi (Abdelazeim et al., 2020).

Pengamatan epidemiologis dan percobaan pada hewan menunjukkan bahwa DHEA memiliki berbagai macam efek biologis dan fisiologis yang bermanfaat sebagai anti karsinogenik jika diberikan pada mencit dan tikus (Abdelazeim et al., 2020). Banyak penelitian telah melaporkan bahwa DHEA

memiliki efek antioksidan dalam berbagai percobaan stres oksidatif akut dan kronis (Ding et al., 2017). Efek DHEA pada perlindungan terhadap stres oksidatif bisa melalui jalur genomik dan non-genomik (Jacob et al., 2008). Pemberian DHEA secara eksogen dapat memberikan efek ganda baik bersifat antioksidan maupun pro-oksidan, tergantung pada dosis yang diberikan dan jaringan spesifik (Ding et al., 2017).

*Dehydroepiandrosterone* (DHEA), zat antara metabolisme dalam sintesis androgen dan estrogen, adalah steroid paling melimpah yang diproduksi oleh adrenal dan ditemukan pada konsentrasi tertinggi dalam sirkulasi (Bosse, 2014). DHEA-S memiliki efek imunomodulasi dan anti-inflamasi yang penting pada hewan dan manusia (Kasperska-zajac, 2010).

### **II.2.2 Mekanisme Kerja *Dehydroepiandrosterone* (DHEA)**

Mekaisme kerja *Dehydroepiandrosterone* (DHEA) bekerja dengan cara mencegah kematian sel (apoptosis) agar tidak terjadi stress oksidatif. Adapun cara untuk menghambat kematian sel (apoptosis) yaitu : (Clark, B. J., 2018)

#### **a. Meningkatkan Aktivitas Enzim Antioksidan**

*Dehydroepiandrosterone* (DHEA) bekerja dengan cara meningkatkan enzim GSH dan POD, dimana fungsi dari ezim ini adalah meningkatkan antioksidan yang ada dalam tubuh sehingga dapat melindungi sel membrane dari stress oksidatif.

b. Memproteksi Kerusakan Membran

*Dehydroepiandrosterone* (DHEA) bekerja dengan cara menurunkan jumlah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada DNA. Diketahui bahwa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jika terlalu banyak akan menyebabkan stress oksidatif sehingga H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ini dikurangi untuk melindungi sel membrane dari stress oksidatif.

c. Mengurangi Proses Apoptosis

*Dehydroepiandrosterone* (DHEA) bekerja dengan cara menurunkan rasio apoptosis pada sel sel membrane, ini bertujuan untuk mengurangi terjadinya proses stress osidatif.

d. Meningkatkan Ekspresi MRNA

*Dehydroepiandrosterone* (DHEA) bekerja dengan cara meningkatkan ekspresi protein Bax dan Caspase 3. Protein ini merupakan protein yang menjadi penanda bahwa terjadi peningkatan ROS dalam tubuh. Ketika ekspresi protein ini ditingkatkan maka antioksidan dalam tubuh menjadi meningkat sehingga dapat melindungi sel membrane dari stress oksidatif.

### **II.2.2 Dosis *Dehydroepiandrosterone* (DHEA)**

Manfaat DHEA sebagai antioksidan telah terbukti dalam dosis 15-30 mg/kg selama 10-14 hari, dimana DHEA mampu menekan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan malondialdehid (MDA) pada organ hati pada berbagai model hewan coba seperti mencit dan tikus (Abd-Ella E.M. et.al, 2020; Bhuiyan et al, 2010).

## **II.3 Peroksidasi Lipid**

### **II.3.1 Gambaran Umum**

Peroksidasi lipid adalah oksidasi lipid biologis, rantai dan proses radikal bebas, yang menghasilkan pembentukan peroksida asam lemak omega-3 dan omega-6. Reaksi ini terdiri dari tiga tahap: inisiasi, propagasi, dan terminasi; langkah-langkah khas reaksi radikal bebas dan reinisiasi. Produk peroksidasi lipid termasuk aldehida reaktif seperti malondialdehid dan 4-hidroksinonenal (Kapusta et al., 2018).

Peroksidasi lipid terlibat sebagai mediator berbagai patologi termasuk peradangan, kanker. Selain itu, peroksidasi lipid bertindak sebagai pengatur kematian sel non-apoptosis (Yekti et al., 2018). Peroksidasi lipid digunakan untuk mengidentifikasi antioksidan (Wadhwa et al., 2012).

Peroksidasi lipid dianggap sebagai target yang berguna untuk penilaian stres oksidatif karena radikal hidroksil adalah bentuk paling reaktif dari ROS dan dapat memulai peroksidasi lipid dengan menyerang asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) (Ito et al., 2019).

### **II.3.2 Malonildialdehida (MDA)**

Malonildialdehida (MDA) adalah produk degenerasi peroksidasi lipid dan asam lemak polienat lainnya (Wadhwa et al., 2012). MDA adalah hasil peroksidasi lipid, yang dihasilkan dari kerusakan asam lemak tak jenuh ganda (Yekti et al., 2018). MDA telah banyak digunakan selama bertahun-

tahun sebagai biomarker yang nyaman untuk peroksidasi lipid karena reaksinya yang mudah dengan asam tiobarbiturat (TBA) (Ayala et al, 2014).

Malonildialdehida diproduksi selama peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda oleh aksi spesies oksigen reaktif, sebagai akibat dari penipisan sistem antioksidan. Ada dua bentuk MDA yang pertama dari endogen dari peroksidasi lipid dan yang kedua dari eksogen diberikan dengan makanan. MDA memodifikasi struktur fisik membran sel dan secara tidak langsung terlibat dalam sintesis protein, DNA, dan RNA. Selain itu, ia memiliki sifat mutagenik dan karsinogenik (Kapusta et al., 2018). Produk akhir MDA dihasilkan oleh dekomposisi asam arakidonat dan PUFA yang lebih besar, melalui proses enzimatik atau nonenzimatik. Produksi MDA melalui proses enzimatik sudah diketahui dengan baik tetapi fungsi biologisnya dan kemungkinan peran ganda yang bergantung pada dosis belum dipelajari meskipun MDA lebih stabil secara kimiawi dan permeabel membran daripada ROS dan kurang toksik dibandingkan 4-HNE dan metilglioksal (MG) (Ayala et al, 2014).

MDA menunjukkan reaktivitas tinggi dan kemampuan untuk membentuk kompleks dengan banyak molekul biologis, sebagian besar MDA terikat pada DNA dan gugus asam amino dalam protein. MDA yang beredar ada terutama dalam dua bentuk, bebas (tidak terikat) dan terikat secara kovalen dengan berbagai biomolekul, seperti protein, asam nukleat, lipoprotein, dan asam amino terlarut. Penting untuk menekankan apakah

tingkat MDA bebas (tidak terikat) atau total (terikat dan tidak terikat) dipertimbangkan. Karena sebagian besar MDA yang bersirkulasi terikat pada protein plasma, dan hanya sejumlah kecil MDA bebas yang ada dalam sampel biologis, kadar total MDA lebih mudah diukur. Hidrolisis fraksi MDA yang terikat protein dapat dicapai dengan perlakuan sampel dengan larutan basa atau dengan larutan asam (Ito et al., 2019).

Saat ini, MDA digunakan sebagai penanda stres oksidatif. MDA adalah aldehida dengan berat molekul rendah yang dapat dibentuk dari serangan radikal bebas pada asam lemak tak jenuh ganda. Peningkatan kadar MDA plasma telah ditemukan pada penyakit payudara jinak dibandingkan dengan kanker payudara. Peroksidasi lipid yang meningkat juga ditemukan pada penyakit otak jinak dibandingkan dengan tumor otak. Oksida nitrat mudah teroksidasi menjadi nitrit dan nitrat. Itu bisa mengintervensi aktivitas tumorocidal atau mengembangkan tumor. Generasi radikal bebas diatur oleh sejumlah besar sistem antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap radikal bebas. Ketika keseimbangan antioksidan terganggu, maka produksi radikal bebas meningkat dan juga menyebabkan inaktivasi enzim antioksidan atau konsumsi antioksidan yang lebih banyak. Beberapa biomarker lain untuk peroksidasi lipid seperti Neuroprostanes (NPs) dan Isoprostanes (IsoPs) dianggap sangat signifikan untuk menganalisis kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas secara *invivo*. Biomarker ini merupakan hasil oksidasi arakidonat dan dokosaheksaenoat yang merupakan reaksi oksidasi yang

diperantarai radikal bebas dan non enzimatis. Produk lain yang terbentuk disebut Isofurans (IsoFs) (Wadhwa et al., 2012).

### **II.3.3 Pengukuran Malonildialdehida (MDA)**

Malondialdehid-MDA adalah salah satu produk akhir yang paling banyak diuji dari kedua reaksi peroksidasi lipid enzimatis dan non-enzimatis. Kandungan MDA digunakan untuk mengukur persentase peroksidasi lipid dalam bentuk uji asam tiobarbiturat (TBA). Hasil warna dalam uji TBA dihasilkan dari sejumlah produk peroksidasi lipid selain MDA; sehingga pengujian tersebut sekarang disebut sebagai pengujian TBARS (untuk Zat Reaktif TBA). Uji TBA-MDA mengukur jumlah MDA yang dilepaskan dari protein plasma di bawah kondisi asam uji (Wadhwa et al., 2012).

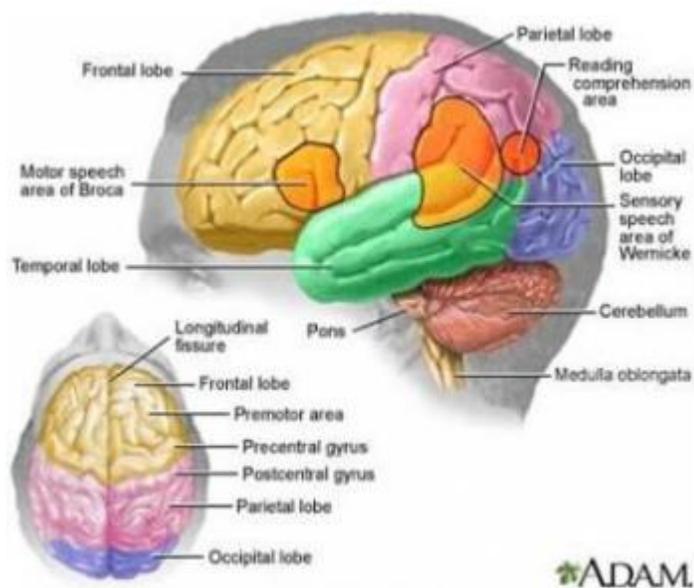
Uji TBA didasarkan pada reaktivitas TBA terhadap MDA untuk menghasilkan adisi merah fluoresen kromogen yang sangat berwarna; tes ini pertama kali digunakan oleh ahli kimia makanan untuk mengevaluasi degradasi autoksidatif lemak dan minyak. Karena MDA adalah salah satu penanda paling populer dan andal yang menentukan stres oksidatif dalam situasi klinis, dan karena reaktivitas dan toksisitas MDA yang tinggi yang mendasari fakta bahwa molekul ini sangat relevan dengan komunitas penelitian biomedis (Ayala et al, 2014).

Hitung MDA merupakan indikator yang baik dari peroksidasi lipid terutama in vitro. Analisis kimia MDA dimulai dengan mengukur komponen

yang disebut zat reaktif asam tiobarbiturat (TBARS) untuk memperkirakan peroksidasi lipid dengan spektrofotometri. Di bawah kondisi asam (misalnya asam asetat glasial atau asam sulfat) dan suhu yang meningkat (misalnya 95°C), waktu reaksi yang diperpanjang (misalnya 60 menit), satu molekul MDA bereaksi dengan dua molekul TBA membentuk warna merah, sangat terlihat menyerap cahaya. ( $\lambda_{maks}$ , 532 nm) dan fluoresen ( $\lambda_{ex}$ , 515 nm); em, 553 nm) turunan atau adisi TBA-MDA kondensasi (Yekti et al., 2018).

## II.4 Organ Otak

### II.4.1 Anatomi Otak



Gambar 1. Anatomi otak (Untari Ida, 2012)

#### **II.4.1.1. Otak besar (serebrum)**

Otak besar merupakan bagian terbesar dan terdepan dari otak manusia. Otak besar mempunyai Tugas dalam mengatur semua aktivitas mental, yang berkaitan dengan kepandaian (intelegensia), ingatan (memori), kesadaran, dan pertimbangan. Otak besar terdiri atas Lobus Oksipitalis sebagai pusat penglihatan, Lobus temporalis yang berfungsi sebagai pusat pendengaran, dan Lobus frontalis yang berfungsi sebagai pusat kepribadian dan pusat komunikasi (Untari Ida, 2012).

#### **II.4.1.2. Otak kecil (serebelum)**

Otak kecil (serebelum) memiliki fungsi utama dalam koordinasi terhadap otot dan tonus otot, keseimbangan dan posisi tubuh. Jika ada rangsangan yang berbahaya maka gerakan sadar yang normal tidak mungkin dilaksanakan. Otak kecil juga berfungsi mengkoordinasikan gerakan yang halus dan luwes (Untari Ida, 2012).

#### **II.4.1.3. Otak tengah (mesensefalon)**

Otak tengah terletak tepat di depan otak kecil dan jembatan varol. Otak tengah berperan penting pada refleks mata, tonus otot serta fungsi posisi atau kedudukan tubuh (Untari Ida, 2012).

#### **II.4.1.4. Otak depan (diensefalon)**

Otak depan terdiri atas dua bagian, yaitu thalamus dan hypothalamus. Thalamus berfungsi menerima semua rangsang dari reseptor kecuali bau, sedangkan hypothalamus berfungsi dalam pengaturan suhu, pengaturan

nutrien, penjagaan agar tetap bangun, dan penumbuhan sikap agresif (Untari Ida, 2012).

#### **II.4.1.5. Jembatan varol (pons varoli)**

Jembatan varol adalah serabut saraf yang menghubungkan otak kecil bagian kiri dan kanan. Selain itu jembatanvarol juga menghubungkan otak besar dan sumsum tulang belakang (Untari Ida, 2012).

#### **II.4.2 Fungsi Otak**

Otak melaksanakan semua fungsi yang disadari. Otak bertanggung jawab terhadap pengalaman-pengalaman berbagai macam sensasi atau rangsangan yang telah dialami terhadap kemampuan manusia untuk melakukan gerakan-gerakan yang menuruti kemauan atau disadari, dan kemampuan untuk melaksanakan berbagai macam proses mental, seperti ingatan atau memori, perasaan emosional, intelegensia, berkomunikasi, sifat atau kepribadian dan ramalan (Untari Ida, 2012).

#### **II.4.3 Toksisitas Asap Rokok Pada Otak**

Sistem saraf tersusun oleh milyaran neuron yang berorganisasi dengan berbagai macam jaringan. Sebagian besar neuron ini berlokasi dalam otak (brainstem), sehingga dikenal dengan system saraf pusat (Carlsson et al., 2000). Otak merupakan tempat yang paling rentan terhadap kerusakan oksidatif terutama karena mengandung asam lemak tak jenuh ganda, mempunyai kadar oksigen yang tinggi, dan relatif rendah antioksidan (Aksenova, 2005).

Utami (2003) menjelaskan pula bahwa otak merupakan salah satu organ dengan kandungan lemak tinggi (kurang lebih 80%) sehingga otak rentan terhadap serangan radikal bebas. Otak fetus yang baru berkembang lebih rentan terhadap efek neurotoksik misalnya dalam kondisi prooksidatif pada paparan etanol dengan antioksidan yang rendah dan dapat memicu terjadinya kerusakan oksidatif (Shirpoor et al., 2009).

Otak merupakan salah satu organ target dari paparan asap rokok yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan (Kemenkes, 2010). Asap rokok sangat banyak mengandung campuran racun yang kompleks, beberapa dari racun tersebut adalah radikal bebas. Asap rokok dapat diuraikan menjadi gas dan partikulat, tiap bentuk tersebut mempunyai zat kimia yang berbeda. Secara keseluruhan bentuk gas mengalami oksidasi sedangkan bentuk partikulat mengalami reduksi. Beberapa unsur pokok pada asap rokok dalam bentuk gas diantaranya adalah amonia ( $\text{NH}_3$ ), karbonmonoksida ( $\text{CO}$ ), carbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ), nitrogen oksida ( $\text{NO}$ ), nitrogen dioksida ( $\text{NO}_2$ ), hidrogen sianida ( $\text{HCN}$ ). Sedangkan dalam bentuk partikulate diantaranya adalah tar, nikotin, metal (seperti kadmium, timah (lead), nikel, besi, kromium, arsenic) (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Dengan kandungan zat kimia tersebut, maka dapat dipastikan efek rokok sangat merugikan bagi kesehatan. Hal ini bukan saja bagi perokok tapi juga berakibat bagi orang-orang yang tidak merokok tapi terkena asap (perokok pasif) (Sukendro, 2007).

Nikotin yang terkandung dalam rokok merupakan racun syaraf (potent nerve poison). Pada suhu rendah, bahan ini bertindak sebagai perangsang dan itu merupakan penyebab salah satu mengapa merokok digemari dan dijadikan tabiat. Nikotin dalam asap rokok dapat menstimulasi medula adrenal untuk melepaskan katekolamin yang dapat mempengaruhi system saraf pusat. Penggunaan nikotin secara akut maupun kronik dapat menimbulkan toleransi. Toleransi akut terjadi akibat desensitasi reseptor, yaitu saat nikotin berikatan dengan reseptor nikotin akan terjadi perubahan alosterik dan reseptor nikotin menjadi tidak sensitif terhadap nikotin beberapa waktu. Penggunaan kronik akan meningkatkan jumlah reseptor nikotin yang mungkin merupakan akibat dari desensitasi reseptor. Dalam keadaan tersebut jika nikotin tidak tersedia, maka pelepasan dopamine dan neurotransmitter lainnya akan menurun dibawah normal sehingga menimbulkan efek putus obat. Akibat yang timbul akibat putus obat tersebut menyebabkan nikotin dianggap menjadi benda asing dalam tubuh sehingga dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid (Anita, 2004).

Karbon monoksida dari asap rokok merupakan gas beracun yang dapat mengakibatkan berkurangnya kemampuan darah membawa oksigen ke otak, hal inilah yang bisa mengakibatkan kematian sel karena kekurangan oksigen. Akibat dari kematian sel ini dapat memicu pembentukan ROS sehingga dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Sukendro, 2007).

Nitrogen dioksida dapat merusak membran yang dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid otak. Nitrogen dioksida yang terkandung dalam asap rokok bekerja dengan cara bereaksi dengan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang menghasilkan  $OH^\bullet$  dan menyebabkan tidak dapat berkombinasinya oksigen dengan molekul hemoglobin (Karen, Thomas, 2006).

Radikal bebas ( $OH^\bullet$ ) pada otak akan merusak tiga komponen molekul utama yaitu lipid, protein dan DNA. Kerusakan pada lipid ditiap oksidasi dan pada proses dasar oksidasi DNA sel akan mengganggu integritas sel sehingga akan menimbulkan kematian pada sel otak (Halliwell & Gutteridge, 1999).