

**TESIS**

**PENGARUH PEMBERIAN DEHYDROEPIANDROSTERONE  
(DHEA) TERHADAP PARU-PARU TIKUS WISTAR JANTAN  
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

*THE EFFECT OF DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) ON  
THE LUNGS OF MALE WISTAR RATS EXPOSED TO  
CIGARETTE SMOKE*

**SRI HARDIYANTI ASAD**



**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

**TESIS**

**PENGARUH PEMBERIAN DEHYDROEPIANDROSTERONE  
(DHEA) TERHADAP PARU-PARU TIKUS WISTAR JANTAN  
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

*THE EFFECT OF DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) ON  
THE LUNGS OF MALE WISTAR RATS EXPOSED TO  
CIGARETTE SMOKE*

**SRI HARDIYANTI ASAD**

**P062192010**



**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**HALAMAN PENGANTAR**

**PENGARUH PEMBERIAN DEHYDROEPIANDROSTERONE  
(DHEA) TERHADAP PARU-PARU TIKUS WISTAR JANTAN  
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik  
Konsentrasi Fisiologi

Disusun dan diajukan oleh

SRI HARDIYANTI ASAD  
P062192010

kepada

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

# HALAMAN PENGESAHAN

## TESIS

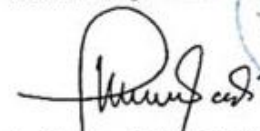
### PENGARUH PEMBERIAN DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) TERHADAP PARU-PARU TIKUS WISTAR JANTAN YANG TERPAPAR ASAP ROKOK

SRI HARDYANTI ASAD  
NIM: P062192010

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian Studi Program Magister Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 15 Agustus 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan



Pembimbing Utama



dr. M. Aryadi Arsyad, M.BiomSc, Ph.D.  
NIP. 19760820 2002121 003

Pembimbing Pendamping



Yura Yusrini Djabir, S.Si., M.Si.,  
M.BiomedSc., PhD. Apt.  
NIP. 19780728 2002122 003

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik



Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc.  
NIP. 19770121 2003122 003

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. Bodo, Ph.D., Sp.M(K), M.MedEd  
NIP. 19661231-1995031 009

## PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sri Hardiyanti Asad  
NIM : P062192010  
Jurusan/Program Studi : Ilmu Biomedik Konsentrasi Fisiologi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang berjudul "Pengaruh Pemberian Dehydroepiandrosterone (DHEA) terhadap Paru-Paru Tikus Wistar Jantan yang Terpapar Asap Rokok" adalah karya ilmiah saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya di dalam naskah tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan/ditulis/diterbitkan sebelumnya, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 19 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,



Sri Hardiyanti Asad

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah Subhanahu wa Ta'ala dengan segala limpahan Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan tesis yang berjudul "Pengaruh Pemberian *Dehydroepiandrosterone* (DHEA) Terhadap Paru-Paru Tikus Wistar Jantan yang Terpapar Asap Rokok". Shalawat dan salam juga penulis haturkan kepada baginda Rasulullah Shallallahu 'Alaihi wa Sallam, keluarga dan para sahabatnya. Tesis ini diajukan dalam rangka menyelesaikan studi strata dua untuk mencapai gelar magister pada program studi Ilmu Biomedik Konsentrasi Fisiologi, Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis ingin menyampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang turut memberikan dukungan dan doa selama proses penyusunan sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik, kepada:

1. Ibunda **Dra. Hj. Rawatiah** dan Ayahanda **H. Muh. Asad Jafar, SE., M.M.** selaku orang tua penulis yang selalu memberikan motivasi, dukungan, doa, pengertian, dan kasih sayang dalam setiap proses penyusunan tesis ini, Semoga beliau selalu diberi kesehatan dan lindungan Allah Ta'ala.
2. Bapak **dr. M. Aryadi Arsyad, M.BiomedSc., Ph.D** selaku pembimbing utama yang telah memberikan kontribusi besar dalam meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan, arahan dan bantuan kepada penulis serta memberikan masukan dan solusi dalam setiap permasalahan-permasalahan dalam proses penulisan tesis ini sampai akhir.
3. Ibu **Yulia Yusrini Djabir, S.Si., M.Si., M.BiomedSc., Ph.D., Apt.** selaku pembimbing pendamping yang juga telah memberikan kontribusi besar dalam meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan membantu penulis serta memberikan masukan dan solusi dalam setiap permasalahan-permasalahan dalam proses penulisan tesis ini sampai akhir.
4. Ibu **Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc** selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddian dan sebagai penguji yang telah bersedia meluangkan waktu dan memberikan masukan, kritik dan saran dalam penyusunan dan penyelesaian tesis ini.
5. Bapak **dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D., Sp.PA DFM** dan **Firzan Nainu., M.Biomed.,Sc., Ph.D** selaku penguji yang telah meluangkan waktu

dan memberikan masukan, saran dan kritik dalam dalam penyusunan dan penyelesaian tesis ini.

6. Bapak/Ibu Dosen Pascasarjana beserta Staf Sekolah Pascasarjana atas bantuan, pelayanan, dan ilmu yang telah diberikan selama penulis menempuh Pendidikan di Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
7. Bapak Juhari, S.Si, Apt. atas kerjasama, bantuan dan saran yang telah diberikan dalam proses pemeriksaan sampel penelitian tesis ini.
8. Teman-teman konsentrasi Fisiologi 2019/2 yang telah memberikan semangat, dukungan dan masukan selama menempuh pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
9. Sahabat-sahabat dan teman-teman ARF yang telah memberikan doa, semangat, dukungan dan bantuan selama proses penyelesaian tesis ini.
10. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian tesis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan tesis dimasa mendatang. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bukan hanya untuk penulis tetapi juga bagi para pembaca.

Makassar, Agustus 2022



Sri Hardiyanti Asad

## ABSTRAK

**SRI HARDIYANTI ASAD.** *Pengaruh Pemberian Dehydroepiandrosterone (DHEA) Terhadap Paru-Paru Tikus Wistar Jantan yang Terpapar Asap Rokok (dibimbing oleh M. Aryadi Arsyad dan Yulia Yusrini Djibir).*

Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap paru-paru tikus Wistar jantan yang terpapar asap rokok. Sebanyak 21 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok KN-14 (kontrol negatif yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari), kelompok DHEA-1 (diberikan DHEA dengan dosis 15 mg/kgBB dan paparan asap rokok), kelompok DHEA-2 (diberikan DHEA dengan dosis 30 mg/kgBB dan paparan asap rokok). Pemberian DHEA dilakukan 30 menit sebelum paparan asap rokok secara oral melalui kanula dengan lama paparan sekitar 25-40 menit yang setara dengan 4 batang rokok/hari. Setelah 14 hari masa eksperimen, dilakukan pembedahan organ paru-paru kanan untuk pemeriksaan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebagai biomarker peroksidasi lipid menggunakan metode *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARs) yang diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 532 nm dan organ paru-paru kiri untuk pemeriksaan histopatologi paru-paru.

Studi ini menunjukkan kadar MDA paru pada kelompok DHEA-1 dan DHEA-2 cenderung lebih tinggi dibandingkan KN-14. Selain itu, pemeriksaan histopatologi menunjukkan presentase kerusakan jaringan paru kelompok DHEA-1 dan DHEA-2 cenderung lebih rendah dibandingkan KN-14. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa DHEA dengan dosis 15 dan 30 mg/kgBB cenderung bersifat sebagai pro-oksidan, tetapi kemungkinan memiliki potensi memperbaiki kerusakan histopatologi paru-paru akibat paparan asap rokok. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh dosis DHEA sebagai antioksidan dan peran DHEA dalam mekanisme perbaikan kerusakan jaringan paru akibat paparan asap rokok.

**Kata kunci:** *dehydroepiandrosterone, peroksidasi lipid, MDA, histopatologi, paparan asap rokok*

 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris,
Tanggal: 27/07/202	
 S R I H A R D I Y A N T I A S A D	



## ABSTRACT

**SRI HARDIYANTI ASAD.** *The Effect of Dehydroepiandrosterone (DHEA) on the Lungs of Male Wistar Rats Exposed to Cigarette Smoke* (supervised by **M. Aryadi Arsyad dan Yulia Yusrini Djabir**).

This study investigated the effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on the lungs of male Wistar rats exposed to cigarette smoke. A total of 21 male Wistar rats were divided into 3 groups, namely the KN-14 group (negative control exposed to cigarette smoke for 14 days), the DHEA-1 group (given DHEA at a dose of 15 mg/kgBW and exposure to cigarette smoke), the DHEA-2 (given DHEA at a dose of 30 mg/kgBW and exposure to cigarette smoke). DHEA was administered orally through a cannula 30 minutes before exposure to cigarette smoke with an exposure duration of about 25-40 minutes, equivalent to 4 cigarettes/day. After 14 days of experimentation, the rats were euthanized. Right lungs were harvested for malondialdehyde (MDA) level measurement using the thiobarbituric acid reactive substance (TBARs) method measured by UV-Visible spectrophotometer at a wavelength of 532 nm. The left lungs were also harvested for histopathological examination.

This study showed that pulmonary MDA levels in DHEA-1 and DHEA-2 tended to be higher than in KN-14. Meanwhile, histopathological examination showed that the percentage of lung tissue damage in DHEA-1 and DHEA-2 tended to be lower than in KN-14. Thus, it can be concluded that DHEA at doses of 15 and 30 mg/kgBW tended to act as a pro-oxidant but might potentially improve lung histology due to cigarette smoke exposure. However, further research is needed to obtain a dose of DHEA as an antioxidant and the role of DHEA in the repair mechanism of lung tissue damage due to cigarette smoke exposure.

**Keyword:** *dehydroepiandrosterone, lipid peroxidation, MDA, histopathological, exposure of cigarette smoke*



## DAFTAR ISI

Judul	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN .....	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
BAB I.....	1
A. LATAR BELAKANG MASALAH .....	1
B. RUMUSAN MASALAH.....	3
C. TUJUAN PENELITIAN .....	4
D. MANFAAT PENELITIAN .....	4
BAB II.....	5
A. ASAP ROKOK .....	5
B. DEHYDROEPIANDROSTERON.....	8
C. PEROKSIDASI LIPID.....	11
D. EFEK ASAP ROKOK TERHADAP PARU-PARU .....	14
E. PENGARUH ASAP ROKOK TERHADAP DHEA DAN FUNGSI PARU ...	15
F. PEMERIKSAAN HISTOLOGI PARU .....	17
G. KERANGKA TEORI .....	20
H. KERANGKA KONSEP .....	20
I. HIPOTESIS.....	21
BAB III.....	22
A. DESAIN PENELITIAN.....	22
B. VARIABEL PENELITIAN.....	23
C. WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN.....	23
D. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN.....	23
E. ALAT DAN BAHAN .....	24
F. PROSEDUR PENELITIAN .....	24
G. DEFINISI OPERASIONAL .....	28

H. IZIN PENELITIAN DAN KELAYAKAN ETIK .....	29
I. TEKNIK ANALISIS DATA.....	29
J. ALUR PENELITIAN.....	30
BAB IV.....	31
A. HASIL PENELITIAN.....	31
B. PEMBAHASAN .....	39
C. KETERBATASAN PENELITIAN.....	46
BAB V.....	47
A. KESIMPULAN.....	47
B. SARAN .....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN .....	53
RIWAYAT HIDUP.....	65

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Sintesis dan Metabolisme DHEA .....	9
<b>Gambar 2.2</b> Kerusakan paru yang dimediasi oleh oksidan .....	15
<b>Gambar 2.3</b> Gambaran histopatologi organ pulmo tikus putih pada kelompok perlakuan .....	18
<b>Gambar 2.4</b> Kerangka Teori .....	20
<b>Gambar 2.5</b> Kerangka Konsep .....	20
<b>Gambar 3.1</b> Desain Penelitian .....	22
<b>Gambar 3.2</b> Ilustrasi Smoke Chamber .....	26
<b>Gambar 3.3</b> Alur Penelitian .....	30
<b>Gambar 4.1</b> Kurva Baku Malondialdehida (MDA) .....	32
<b>Gambar 4.2</b> Diagram rata-rata kadar MDA paru pada kelompok pilot studi setelah pemaparan asap rokok selama 14 hari dan 30 hari .....	32
<b>Gambar 4.3</b> Diagram rata-rata kadar MDA paru setelah pemberian DHEA dosis 15 mg/kg BB dan dosis 30 mg/kg BB .....	33
<b>Gambar 4.4</b> Diagram rata-rata bobot relatif organ paru terhadap bobot badan tikus pada kelompok pilot studi .....	34
<b>Gambar 4.5</b> Diagram rata-rata bobot relatif organ paru terhadap bobot badan tikus pada kelompok perlakuan .....	35
<b>Gambar 4.6</b> Gambaran histopatologi paru-paru tikus kelompok kontrol negatif setelah pemaparan asap rokok selama 30 hari .....	36
<b>Gambar 4.7</b> Gambaran histopatologi paru-paru tikus kelompok kontrol negatif setelah pemaparan asap rokok selama 14 hari .....	36
<b>Gambar 4.8</b> Gambaran histopatologi paru-paru tikus pada kelompok DHEA-1 yang diberi suplementasi DHEA dosis 15 mg/kg BB dan paparan asap rokok selama 14 hari .....	37
<b>Gambar 4.9</b> Gambaran histopatologi paru-paru tikus pada kelompok DHEA-2 yang diberi suplementasi DHEA dosis 30 mg/kg BB dan paparan asap rokok selama 14 hari .....	37
<b>Gambar 4.10</b> Diagram rata-rata total skor kumulatif kerusakan histopatologi pada kelompok pilot studi setelah pemaparan asap rokok selama 14 dan 30 hari .....	38
<b>Gambar 4.11</b> Diagram rata-rata total skor kumulatif kerusakan histopatologi pada kelompok perlakuan setelah pemaparan asap rokok dan pemberian DHEA selama 14 hari .....	38

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b> Senyawa-Senyawa yang Terkandung dalam Asap Rokok .....	7
<b>Tabel 3.1</b> Definisi Operasional.....	28
<b>Tabel 3.2</b> Kriteria Penilaian Derajat Kerusakan Paru .....	29
<b>Tabel 4.1</b> Hasil Pengamatan Gejala Klinis Selama Pemberian Asap Rokok pada Kelompok Pilot Studi.....	31
<b>Tabel 4.2</b> Hasil Pengamatan Gejala Klinis Selama Pemberian DHEA pada Kelompok Perlakuan.....	31

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>LAMPIRAN 1.</b> Rekomendasi Persetujuan Etik .....	53
<b>LAMPIRAN 2.</b> Dokumentasi Penelitian.....	54
<b>LAMPIRAN 3.</b> Hasil Pengukuran Kurva Baku dan Kadar MDA.....	57
<b>LAMPIRAN 4.</b> Hasil Pengukuran Skoring Kerusakan Histopatologi.....	58
<b>LAMPIRAN 5.</b> Analisis Statistik Data.....	59

# BAB I PENDAHULUAN

## A. LATAR BELAKANG MASALAH

Merokok merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya penyakit kardiovaskular dan paru-paru yang merupakan penyebab kematian terbesar di dunia (Oakes et al., 2020). *World Health Organisation* (WHO) telah memberikan peringatan bahwa dalam dekade 2020-2030 tembakau akan membunuh 10 juta orang per tahun, 70% diantaranya terjadi di negara-negara berkembang (WHO, 2008). Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013, perilaku merokok penduduk usia  $\geq 15$  tahun di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun sebelumnya 34,4 % menjadi 36,3 %, sedangkan pada tahun 2018 mengalami penurunan dari tahun sebelumnya yaitu 33,8% (RISKESDAS, 2018).

Asap rokok merupakan campuran lebih dari 4000 unsur kimia yang berbeda (Joshi et al., 2020). Asap rokok kaya akan senyawa oksidan dan mengandung sekitar  $10^{14}$  radikal bebas per isapan. Banyaknya radikal bebas seperti tar semiquinone dapat menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) lainnya seperti hidrogen peroksida melalui reaksi Fenton. (Lanzetti et al., 2011). Radikal bebas yang masuk ke dalam saluran napas dapat menyebabkan gangguan mekanisme pertahanan antioksidan tubuh sehingga mengakibatkan kerusakan sel (Angelis et al., 2014).

Merokok dapat meningkatkan stres oksidatif melalui pembentukan ROS, sehingga menyebabkan peroksidasi lipid. ROS yang dihasilkan oleh senyawa yang mengandung asap rokok baik secara langsung maupun tidak langsung dapat merusak DNA, meningkatkan peradangan sehingga mendorong karsinogenesis pada perokok (Joshi et al., 2020). Stres oksidatif juga menginduksi kerusakan protein, DNA, dan lipid yang dapat menyebabkan cedera paru langsung atau menginduksi berbagai respon seluler generasi spesies reaktif metabolik sekunder. Paparan kronis asap rokok dikaitkan dengan penurunan pertahanan antioksidan baik enzimatis maupun nonenzimatis melalui penipisan terus-menerus sebagai respon terhadap ledakan oksidatif (Lanzetti et al., 2011).

Kehadiran asap rokok di saluran udara menginduksi migrasi dan aktivasi sel inflamasi, terutama makrofag dan neutrofil yang menambah beban oksidan dengan menghasilkan lebih banyak ROS (Lanzetti et al., 2011). Makrofag yang diaktifkan melepaskan mediator inflamasi dan faktor kemotaksis, berupa *tumor*

*necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *interleukin* IL-6, IL-8, *monocyte chemotactic peptide* (MCP)-1, *leukotriene* LTB<sub>4</sub>, dan spesies oksigen reaktif serta mensekresi enzim proteolitik (terutama MMP-9 dan MMP-12) yang berkontribusi pada pembentukan emfisema paru. Neutrofil bergerak langsung ke saluran pernapasan dan menyebabkan stimulasi hipersekresi submukosa dan sel goblet oleh proteinase dibawah pengaruh faktor kemotatik yang disekresikan khususnya IL-8 dan LTB-4 (Angelis et al., 2014).

Penelitian telah menunjukkan bahwa dalam darah perokok serta berbagai organ hewan yang terpapar asap rokok kronis, terjadi peningkatan peroksidasi lipid, karbonilasi protein, dan oksidasi DNA (Carlos et al., 2014). Akumulasi radikal bebas eksogen yang tinggi dari rokok dan radikal bebas endogen menyebabkan kondisi stres oksidatif hingga terjadinya peroksidasi lipid. Kondisi stres oksidatif mempengaruhi tingginya kadar *malondialdehyde* (MDA) yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, suatu senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas didalam sel (Firi, et al., 2019). Pemberian antioksidan secara eksogen dapat menjadi strategi yang efektif untuk meningkatkan status redoks sehingga dapat memperbaiki efek dari asap rokok (Lanzetti et al., 2011).

*Dehydroepiandrosterone* (DHEA) merupakan salah satu hormon steroid bersirkulasi endogen (Kouti et al., 2019) yang terlibat dalam sejumlah tindakan biologis pada manusia dan rodensia (Parmegiani et al., 2011). DHEA merupakan karsinogen pada hewan laboratorium, melalui fungsinya sebagai prekursor steroid seks atau proliferasi peroksisom. 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). Data yang dipublikasikan mendukung bahwa DHEA adalah antioksidan yang bertindak untuk membatasi pembentukan radikal bebas dan peroksidasi lipid, yang diinduksi pada berbagai model hewan dan terhadap berbagai gangguan pada manusia (Elkarib, 2014).

DHEA adalah steroid utama dengan sifat multi fungsi yang berasal dari kolestrol dan disekresikan oleh korteks adrenal (Bhuiyan et al., 2011). DHEA juga disekresi di gonad, otak, kulit, ginjal dan saluran pencernaan (Prough et al., 2016; Wang et al., 2020) yang berfungsi sebagai perantara metabolik dalam biosintesis steroid seks androgen dan estrogen (Kouti et al., 2019). DHEA secara reversibel diubah menjadi *dehydroepiandrosterone sulfate* (DHEA-S) (Chen et al., 2016). Bersama dengan ester 3 $\beta$ -sulfatnya (DHEAS) adalah steroid bersirkulasi yang



paling melimpah pada manusia (Savineau et al., 2015) dengan konsentrasi lebih dari 100 kali lipat lebih tinggi daripada steroid seks lainnya (Al-azawi & Asker, 2016) dan bertindak baik secara langsung atau melalui metabolitnya (termasuk androstenediol dan androstenedione) yang dapat mengalami konversi lebih lanjut untuk menghasilkan testosteron dan estradiol (Parmegiani et al., 2011).

Penelitian oleh Zein et al. (2020), menunjukkan hubungan positif antara kadar DHEA-S adrenal yang bersirkulasi dan fungsi paru-paru. Androgen menyebabkan relaksasi otot polos saluran napas dan mencegah baik remodelling maupun inflamasi pada model hewan asma. Adapun penelitian yang dilakukan oleh Becerra-diaz et al. (2020) DHEA oral selama 2 minggu meningkatkan fungsi paru pada wanita penderita asma dengan DHEA-S rendah <200 200g/dL. Kadar DHEA-S yang rendah pada wanita dikaitkan dengan gangguan fungsi paru-paru dan risiko yang lebih besar untuk mengembangkan keterbatasan aliran udara di kemudian hari. Temuan kami memberikan bukti baru yang mendukung peran DHEA-S dalam kesehatan pernapasan (Pesce et al., 2020).

Merokok mengubah tingkat hormon steroid endogen. Merokok juga memiliki efek pada sekresi androgen adrenal. Kadar *androstenedion* dan DHEA-S yang lebih tinggi ditemukan pada perokok. Androstenedion yang distimulasi ACTH, 17-hidroksiprogesteron dan DHEA dilaporkan lebih tinggi pada perokok pria (Kapoor & Jones, 2005). Paparan nikotin akut juga meningkatkan kadar DHEA, dengan bukti yang menunjukkan respons tergantung dosis untuk DHEA yang meningkat dengan jumlah nikotin yang lebih tinggi (Obasi et al., 2017).

Berdasarkan uraian-uraian diatas telah diketahui efek DHEA terhadap berbagai gangguan, tetapi pengaruhnya terhadap paru-paru yang terpapar asap rokok masih sangat terbatas, sehingga atas dasar inilah peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap paru-paru tikus Wistar jantan yang terpapar asap rokok.

## **B. RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap aktivitas peroksidasi lipid yang terjadi akibat paparan asap rokok melalui pemeriksaan kadar *malondialdehyde* (MDA) organ paru-paru?
2. Bagaimana pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap gambaran histopatologi paru-paru yang terjadi akibat paparan asap rokok?

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

### **1. TUJUAN UMUM**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap paru-paru tikus Wistar jantan yang terpapar asap rokok.

### **2. TUJUAN KHUSUS**

Tujuan khusus penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap aktivitas peroksidasi lipid organ paru yang terjadi akibat paparan asap rokok melalui pemeriksaan kadar *malondialdehyde* (MDA).
- b. Untuk mengetahui pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap gambaran histopatologi paru tikus Wistar jantan yang terpapar asap rokok yang diamati berdasarkan skor parameter kerusakan histopatologi.

## **D. MANFAAT PENELITIAN**

### **1. MANFAAT PENGEMBANGAN ILMU**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah serta menambah wawasan dan pengetahuan peneliti dalam memahami pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap paru-paru tikus Wistar jantan yang terpapar asap rokok.

### **2. MANFAAT PRAKTIS**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan referensi bagi pembaca dan sebagai data awal penelitian selanjutnya mengenai hubungan antara *dehydroepiandrosterone* dengan paru-paru yang terpapar asap rokok.

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. ASAP ROKOK**

Merokok adalah penyebab tunggal terbesar dari kematian dini yang dapat dihindari dan bertanggung jawab atas 18,5% dari semua kematian di negara-negara maju secara ekonomi dan dengan cepat mencapai status ini di luar negara maju. Menurut perkiraan WHO, 5,4 juta kematian dini disebabkan oleh merokok tembakau di seluruh dunia. Jika tren saat ini terus berlanjut, 10 juta perokok per tahun diperkirakan akan meninggal pada tahun 2025 (Fagerstrom, 2014). Penyebab kematian terkait asap rokok yang paling umum adalah penyakit kardiovaskular, penyakit paru obstruktif kronik, dan berbagai jenis kanker, khususnya kanker paru-paru. Selain itu, asap tembakau lingkungan juga secara signifikan meningkatkan risiko untuk mengembangkan penyakit ini dan penyakit lainnya (Talhout et al., 2011)

Asap rokok mengandung lebih dari 7000 zat kimia beracun dalam bentuk gas dan partikel yang bersifat karsinogen, mutagen, antigenik dan sitotoksik. Di Amerika Serikat, lebih dari 400.000 kematian per tahun dikaitkan dengan merokok (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 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 atau makrofag alveolar paru. 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. Merokok diketahui terkait dengan berbagai penyakit paru dan kardiovaskular kronis mulai dari peradangan hingga kanker (Thirumalai et al., 2010).

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). 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, peningkatan kematian sel, dan penurunan remodeling paru menyebabkan perubahan emfisematous di paru-paru. 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 dan kerusakan paru. 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. Secara umum, paparan polutan menginduksi peradangan paru melalui generasi stres oksidatif yang didefinisikan sebagai ketidakseimbangan dalam produksi spesies oksigen reaktif, sehingga merugikan sistem pertahanan antioksidan. Yang penting, paparan partikel udara ambien tidak

hanya menginduksi peradangan paru tetapi juga gangguan perilaku baik pada manusia maupun pada tikus (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).

**Tabel 2.1** Senyawa-Senyawa yang Terkandung dalam Asap Rokok

	Senyawa	Efek
Fase Partikel	a. Tar	Karsinogen
	b. Hidrokarbon aromatic polinuklear	Karsinogen
	c. Nikotin	Stimulator, depressor ganglion, kokarsinogen
	d. Fenol	Karsinogen dan iritan
	e. Kresol	Karsinogen dan iritan
	f. $\beta$ -Naftilamin	Karsinogen
	g. N-Nitrosonomikotin	Karsinogen
	h. Benzo(a)piren	Karsinogen
	i. Logam renik	Karsinogen
	j. Indol	Karsinogen
	k. Karbazol	Akselerator tumor
l. Katekol	Akselerator tumor	
Fase Gas	a. Karbon Monoksida	Pengurangan transfer dan pemakaian O <sub>2</sub>
	b. Asam Hidrosianat	Sitotoksik dan iritan
	c. Asetaldehid	Sitotoksik dan iritan
	d. Acrolein	Sitotoksik dan iritan
	e. Amonia	Sitotoksik dan iritan
	f. Formaldehid	Sitotoksik dan iritan
	g. Oksida dari nitrogen	Sitotoksik dan iritan
	h. Nitrosamine	Karsinogen
	i. Hidrozin	Karsinogen
	j. Vinil Klorida	Karsinogen

Partikel tar dalam asap memiliki ukuran yang berbeda dan partikel terkecil memiliki potensi terbesar untuk mencapai jauh ke dalam paru-paru. Epitel paru adalah penghalang antara udara yang dihirup dan jaringan di bawahnya. Sel tipe I menyusun 95% permukaan alveolus di daerah pertukaran gas distal paru. Untuk mempertahankan penghalang ini, penggantian sel terus menerus dan perbaikan epitel penting. Kematian sel melalui apoptosis sangat penting untuk menghilangkan sel-sel yang rusak selama remodeling jaringan dan peradangan. Namun, gangguan pada proses fisiologis ini dapat mengakibatkan nekrosis atau apoptosis berlebihan dengan gangguan fungsi penghalang epitel, yang menyebabkan cedera paru dan perkembangan emfisema. Emfisema berkembang karena destruksi dinding alveolus dan kerusakan epitel alveolus serta mikrovaskular di bawahnya (Kosmider et al., 2011).

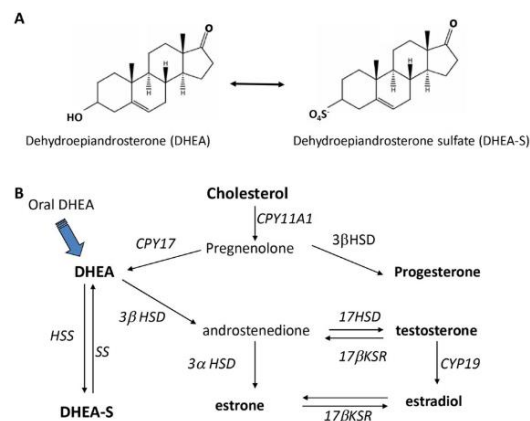
Ribuan zat yang merupakan senyawa asap tembakau terhirup langsung atau sebagai hasil pembakaran suhu tinggi pada ujung rokok. Efek akhir dari pengaruh asap antara lain tergantung pada kondisi lingkungan. Sistem utama yang terpengaruh oleh asap rokok adalah saluran pernapasan. Pada epitel bronkus, perubahan metaplastik dan displastik disertai dengan peningkatan ekspresi molekul adhesi dan sekresi banyak sitokin yang mampu merangsang masuknya sel imun. Dalam populasi makrofag paru, proporsi sel yang meningkat, perubahan penanda permukaan ekspresi dengan gangguan fagositosis dan fungsi penyajian antigen diamati. Paparan kronis asap rokok menyebabkan peningkatan produksi metalloproteinase (MMP) oleh makrofag dan enzim proteolitik oleh neutrofil. Enzim ini menyebabkan kerusakan dinding alveolus. Peningkatan apoptosis jaringan paru mengakibatkan augmentasi bahan asing yang mungkin berperan sebagai autoantigen dan merupakan target sel sitotoksik/supresor (Domagala-kulawik, 2018).

## **B. DEHYDROEPIANDROSTERON**

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  $\text{Ca}^{2+}$  (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 hidroksteroid 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).



**Gambar 2.1 Sintesis dan Metabolisme DHEA.** (A) Struktur kimia DHEA (3 $\beta$ -hidroksi-5-androsten-17-satu) dan turunan sulfokonjugasinya DHEA-S. DHEA-S dapat diinterkonversi dengan DHEA oleh DHEA sulfatase dan sulfotransferase. (B) DHEA berasal dari kolesterol dan pregnenolone. DHEA kemudian dimetabolisme menjadi 5-androsten-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, 4-androsten-3,17-dione, testosteron, estrogen. Enzim yang terlibat adalah: CYP11A1; CPY 17 (liase atau 17 $\alpha$ -hidroksilase); CYP 19 (aromatase); 3 $\alpha$  atau b-HSD (3 $\alpha$  atau b-hidroksisteroid dehidrogenase); 17 $\beta$  HSD (17 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenase); 17 $\beta$ -KSR (17 $\beta$ -ketosteroid reduktase); HSS (hidroksisteroid sulfotransferase); SS (sterol sulfatase).

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 reumatik 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).



Hormon seks memiliki efek biologis pada banyak organ non-reproduksi. Kehadiran reseptor steroid seks di paru-paru dan di saluran udara menunjukkan bahwa androgen dan estrogen mungkin berperan dalam regulasi fungsi pernapasan. Kadar DHEA-S yang rendah pada wanita dikaitkan dengan gangguan fungsi paru-paru dan risiko yang lebih besar untuk mengembangkan keterbatasan aliran udara di kemudian hari. Temuan kami memberikan bukti baru yang mendukung peran DHEA-S dalam kesehatan pernapasan (Pesce et al., 2020).

Pengamatan epidemiologis dan percobaan pada hewan menunjukkan bahwa DHEA memiliki berbagai macam efek biologis dan fisiologis yang bermanfaat termasuk pencegahan obesitas, diabetes, kanker dan penyakit kardiovaskular (Austin et al., 2013), serta 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). DHEA menghambat kontraksi otot polos saluran napas yang ditimbulkan oleh spasmogen atau alergen. DHEA juga menekan respons alergi in vivo dan perkembangan hiper responsivitas saluran napas yang diinduksi oleh peradangan saluran napas alergi pada hewan. Pada manusia, DHEA nebulisasi juga berhasil meningkatkan kontrol asma (Bosse, 2014).

### **C. PEROKSIDASI LIPID**

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 alami seperti vitamin, polifenol, flavon, ginsenosides dan untuk mempelajari mekanisme kerjanya dalam beberapa sistem seperti lipid,

sel darah merah manusia, lipoprotein densitas rendah manusia dan mikrosom hati tikus dalam larutan homogen atau misel (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). 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).

#### 1. Malondialdehyde Sebagai Biomarker dalam Peroksidasi Lipid

Malonyldialdehyde (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 asam lemak omega-3 dan omega-6 karena reaksinya yang mudah dengan asam tiobarbiturat (TBA) (Ayala et al, 2014).

Malondialdehid diproduksi selama peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda oleh aksi spesies oksigen reaktif, sebagai akibat dari penipisan sistem antioksidan. Ada dua bentuk MDA: endogen—dari peroksidasi lipid; dan 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 aduk 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 *in vivo*. 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).

## 2. Pengukuran 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);  $\lambda_{em}$ , 553 nm) turunan atau adisi TBA-MDA kondensasi (Yekti et al., 2018).

#### **D. EFEK ASAP ROKOK TERHADAP PARU-PARU**

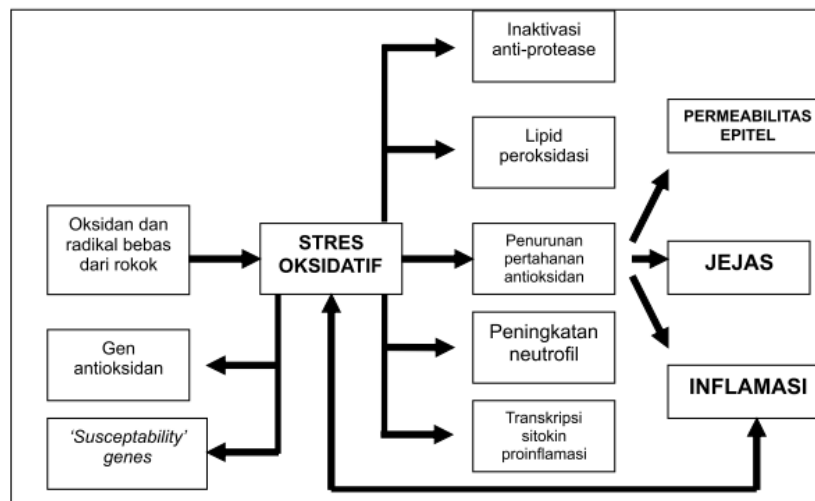
Paparan asap rokok dapat menimbulkan respon inflamasi di saluran napas perifer dan parenkim paru. Radikal bebas pada asap rokok yang masuk ke dalam saluran napas secara langsung dapat mengganggu mekanisme pertahanan antioksidan tubuh serta dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan atau oksidasi pada lipid, protein dan DNA pada sel. Radikal bebas yang masuk akan di detoksifikasi oleh sel makrofag, neutrofil, eosinofil dan sel epitel. Hasil dari detoksifikasi radikal bebas oleh sistem pertahanan tubuh berupa Reactive Oxygen Species (ROS) (Angelis et al., 2014).

Inflamasi yang terjadi pada saluran napas akan membuat kerusakan sel-sel silia bronkus, bronkus, yang secara fisiologis berfungsi sebagai pelindung paru melalui penyaringan berbagai partikel yang terhirup ke dalam saluran napas. Kerusakan sel-sel silia pada saluran napas akan mengakibatkan terjadinya hipersekresi mukus sehingga menyebabkan penyempitan saluran napas (Russi et al., 2013).

Asap rokok pada saluran napas akan secara langsung mendorong pergerakan makrofag, limfosit, dan neutrofil. Partikel dan asap rokok yang masuk akan mengaktifkan mediator inflamasi dan faktor kemotatik, yaitu tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin IL-6, interleukin IL-8, monocyte chemotactic peptide (MCP)-1, leukotriene LTB4 dan reactive oxygen species, and sekresi enzim proteolytic (khususnya MMP-9 dan MMP-12). Faktor kemotatik terutama

interleukin IL-8 dan leukotriene LTB4 akan mempengaruhi pergerakan neutrofil menuju ke saluran pernapasan, sehingga mempengaruhi pengeluaran produksi dari kelenjar lendir submukosa dan perkembangan sel goblet yang berlebihan (Angelis et al., 2014).

Neutrofil akan mensekresi protease serin, termasuk NE (neutrofil elastase), cathepsin G dan proteinase-3, serta MMP-8 dan MMP-9, yang berkontribusi terhadap kerusakan paru-paru. Neutrofil bermigrasi ke saluran pernapasan bawah akibat rangsangan dari faktor kemotaktik neutrofil, yang meliputi IL-8. Kelangsungan hidup neutrofil pada saluran pernapasan dipengaruhi oleh sitokin, seperti GM-CSF (granulocyte/makrofag colony-stimulating factor) dan G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor). Selain itu, peningkatan jumlah sel T juga terlihat pada perokok. Sel T meningkatkan kadar CD4 + dan CD8 + di dinding saluran napas. CD 8 yang disekresikan oleh sel T yang penting untuk resolusi infeksi virus, namun bila berlebihan dapat menimbulkan kerusakan akibat inflamasi paru-paru dan penurunan fungsi paru-paru. Persentase jumlah mediator inflamasi yang terdiri dari neutrofil, makrofag, sel CD4, CD8 + sel, sel-B dan limfosit juga menentukan banyaknya peradangan yang terbentuk pada saluran napas (Vlahos & Bozinovski, 2014).



**Gambar 2.2** Kerusakan paru yang dimediasi oleh oksidan (Fauzia, 2001)

## E. PENGARUH ASAP ROKOK TERHADAP DHEA DAN FUNGSI PARU

Hormon seks memiliki efek biologis pada banyak organ non-reproduksi. Kehadiran reseptor steroid seks di paru-paru dan di saluran udara menunjukkan bahwa androgen dan estrogen mungkin berperan dalam regulasi fungsi pernapasan. Kadar DHEA-S yang rendah pada wanita dikaitkan dengan gangguan

fungsi paru-paru dan risiko yang lebih besar untuk mengembangkan keterbatasan aliran udara di kemudian hari. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pesce et al. (2020) dimana memberikan bukti baru yang mendukung peran DHEA-S dalam kesehatan pernapasan. Penelitian oleh Koziol-white et al. (2012), menilai efek DHEA-S pada migrasi neutrofil darah perifer manusia (PMN) dan sel otot polos saluran napas manusia (HASM) menunjukkan efek langsung bahwa DHEA-S dapat melemahkan peradangan saluran napas dan migrasi sel.

Merokok mengaktifkan aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA), merangsang sekresi hormon adrenokortikotropik (ACTH) dan meningkatkan efek ACTH pada korteks adrenal yang menghasilkan stimulasi produksi kortisol. Aktivasi ini dikaitkan dengan sensitivitas yang lebih rendah dari reseptor nikotin di sistem saraf pusat (SSP). Penghentian merokok yang berkepanjangan menyebabkan perubahan aktivitas HPA dan penurunan tajam serum kortisol (Ová et al., 2013). Merokok juga memiliki efek pada sekresi androgen adrenal. Kadar *androstenedion* dan DHEA-S yang lebih tinggi ditemukan pada perokok. *Androstenedion* yang distimulasi ACTH, 17-hidroksiprogesteron dan DHEA dilaporkan lebih tinggi pada perokok pria meskipun dalam penelitian lain respon terhadap ACTH ditemukan serupa pada perokok pascamenopause dan bukan perokok. Peningkatan sekresi androgen adrenal dapat disebabkan oleh penghambatan 11 $\beta$ -hidroksilase di korteks adrenal (Kapoor & Jones, 2005).

Secara khusus, kadar kortisol dan DHEA basal yang lebih tinggi ditemukan pada perokok bila dibandingkan dengan bukan perokok. Temuan terbaru dengan model hewan juga relevan, yang menunjukkan bahwa tingkat DHEA yang tinggi dapat dikaitkan dengan asupan dan pemulihan zat adiktif termasuk nikotin. Paparan nikotin akut juga meningkatkan kadar DHEA, dengan bukti yang menunjukkan respons tergantung dosis untuk DHEA yang meningkat dengan jumlah nikotin yang lebih tinggi. Secara keseluruhan, penelitian yang ada menunjukkan bahwa penggunaan nikotin dikaitkan dengan DHEA basal yang lebih tinggi yang tampaknya bergantung pada dosis dan meningkat setelah paparan nikotin akut (Obasi et al., 2017).

Kadar DHEA meningkat setelah satu batang rokok dan beberapa peningkatan juga ditemukan pada perokok kronis. Steroid neuroaktif ini dianggap sebagai antidepresan yang efektif dan direkomendasikan sebagai obat yang cocok untuk berhenti merokok. Dalam studi Marx, ditemukan bahwa kadar DHEA berkorelasi terbalik dengan efek negatif dan keinginan untuk merokok. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa kadar DHEA dan penurunan kadar kortisol setelah berhenti merokok dapat memprediksi tingkat kecanduan nikotin. Penurunan rasio kortisol terhadap DHEA selama delapan hari pertama berhenti merokok dikaitkan dengan kekambuhan pada minggu-minggu berikutnya (Ová et al., 2013).

Paru merupakan organ dalam tubuh yang berhubungan langsung dengan udara luar, sehingga paru mempunyai kemungkinan terpajan bahan yang berbahaya (partikel, gas toksik, mikroorganisme patogen). Partikel yang masuk dalam paru ukurannya sangat beragam, dan paru memiliki mekanisme pertahanan untuk melindungi diri dari bahan yang mengengainya. Partikel berukuran  $> 10 \mu\text{m}$  tertangkap di dalam rongga hidung, yang berukuran diantara  $5\text{-}10 \mu\text{m}$  tertangkap di bronkus percabangannya, sedangkan yang berukuran  $< 3 \mu\text{m}$  dapat masuk dalam alveoli. Partikel yang terdisposisi akan mengaktifasi makrofag alveolar untuk melakukan proses fagositosis. Makrofag alveolar berasal dari monosit darah dan termasuk dalam fungsi pertahanan leukosit. Makrofag alveolar merupakan pertahanan yang paling akhir dan paling penting terhadap invasi benda asing ke dalam paru-paru (Guyton & Hall, 2011).

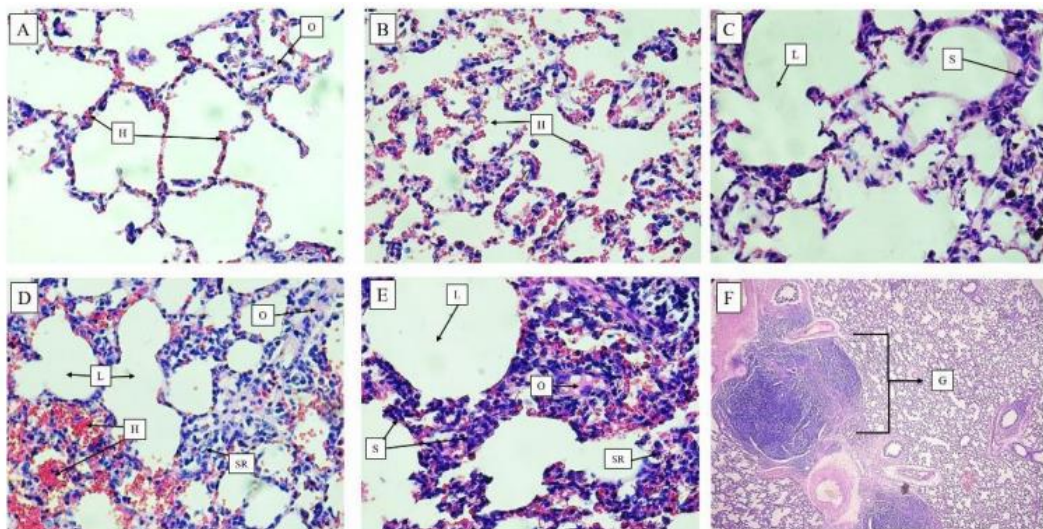
Asap rokok menimbulkan efek kerusakan histopatologi paru tikus, seperti destruksi septum alveolar dan infiltrasi sel radang. Pada pengamatan sediaan preparat, destruksi septum alveolar berupa adanya septum alveolar yang mengalami penipisan, atrofi, dan pada beberapa tempat terdapat kerusakan yang membentuk bulat yang disertai pembesaran duktus dan sakus alveolus. Sedangkan infiltrasi sel radang ditemukan adanya sequestrasi leukosit polimorfonuklear terutama neutrofil pada mikrovaskuler pulmoral. Komponen gas asap rokok adalah CO, amoniak, asam hidrosianat, nitrogen oksida, dan formaldehid. Partikelnya berupa tar, indol, nikotin, karbarzol, dan kresol. Zat ini beracun, mengiritasi, dan menimbulkan kanker (karsinogen). Kelainan paru yang diakibatkan radikal bebas dalam rokok akan menyebabkan gangguan atau kelainan pada saluran pernafasan, mulai dari trakea, bronkus, dan bronkiolus sampai pada alveoli paru. Pada jaringan alveolus paru terdapat sel makrofag alveolar. Sel ini merupakan perkembangan dari sel monosit yang terdapat pada leukosit, bertugas memfagosit benda asing di dalam alveolus paru (Herdiani & Putri., 2018).

## **F. PEMERIKSAAN HISTOLOGI PARU**

Peradangan merupakan ciri patogenensis yang disebabkan karena terhirupnya suatu partikel yang masuk ke dalam sistem pernafasan. Perubahan

histologi yang terjadi pada organ pulmo jika terkena paparan nikotin dalam rokok akan meningkatkan infiltrasi sel radang dalam organ pulmo sehingga beresiko terhadap kerusakan jaringan (Purnama & Fikri, 2020). Pemeriksaan histologi adalah pemeriksaan yang rutin dilakukan pada organ pulmo dimana skoring tingkat kerusakan organ pulmo menurut Roselyn et al., (2017) dengan parameter berupa hemoragik, oedema, infiltrasi sel radang, penebalan septa intraalveoli, pelebaran lumen alveoli dan granuloma.

Pewarnaan hematoxylin dan eosin (H&E) adalah salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan dalam bidang histologi untuk melihat sel dan struktur suatu jaringan. Hematoxylin adalah pewarna dasar yang digunakan untuk mewarnai struktur asam dengan warna biru keunguan, biasanya digunakan untuk mewarnai nukleus. Sedangkan, eosin adalah pewarna asam yang biasa digunakan untuk mewarnai struktur dasar yang berwarna merah atau merah muda yang umumnya digunakan untuk pewarna sitoplasma sel (Pham et al., 2014).



**Gambar 2.3** Gambaran histopatologi organ pulmo tikus putih pada kelompok perlakuan

Keterangan gambar: H = Hemoragik; O = Oedema; Sr = Infiltrasi sel radang; S = Penebalan septa intraalveoli; L = Pelebaran lumen; G = Granuloma

A: Kelompok kontrol

P1: Perlakuan 1 diberikan paparan uap rokok elektrik dengan e-liquid yang mengandung nikotin 0,3 mg/ml

P2: Perlakuan 2 diberikan paparan uap rokok elektrik dengan e-liquid yang mengandung nikotin 3 mg/ml

P3: Perlakuan 3 diberikan paparan uap rokok elektrik dengan e-liquid yang mengandung nikotin 12 mg/ml

P4: Perlakuan 4 diberikan paparan uap rokok elektrik dengan e-liquid yang mengandung nikotin 36 mg/ml



Pada hasil histopatologi kelompok normal atau kontrol menunjukkan hubungan antar alveoli rapat karena kelompok kontrol tidak mengalami perlakuan, namun pada salah satu pengulangan yang lain, ditemukan adanya kelainan organ pulmo. Perubahan kerusakan organ pulmo tersebut terjadi karena adanya pengaruh dari luar yang tidak dapat dikendalikan seperti genetik, kondisi kesehatan individu tikus ataupun psikologi tikus.

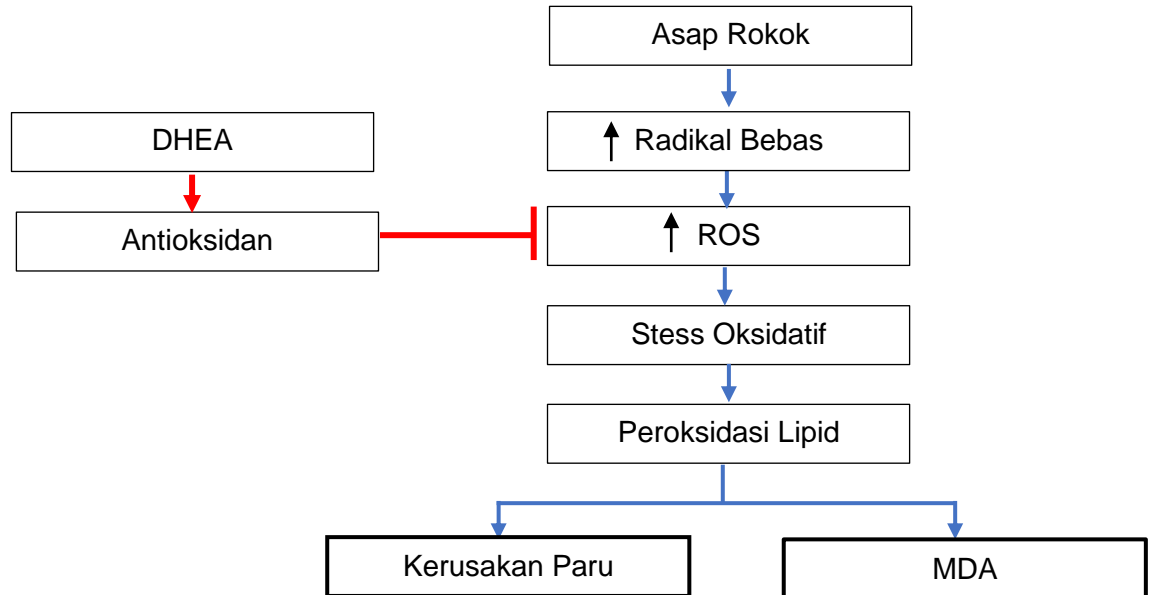
Peradangan merupakan respon vaskuler yang ditandai oleh vasodilatasi, dimana terdapat peningkatan volume darah ke dalam mikrosirkulasi lokal sehingga menyebabkan akumulasi eritrosit pada jaringan interstitial meningkat yang disebut hemorraghi. Mekanisme terjadinya kerusakan organ pulmo akibat paparan asap rokok dimulai ketika radikal bebas masuk ke dalam sistem pernafasan, sehingga tubuh akan merespon keluarnya mediator inflamasi. Paparan rokok elektrik akan menyebabkan kerusakan yang disebabkan karena keluarnya mediator inflamasi berupa kemokin Interleukin-8 (IL-8), dimana IL-8 tersebut akan mengaktivasi neutrofil (Hamid dkk., 2018). Kerusakan organ pulmo yang ditunjukkan dengan adanya aktivitas infiltrasi sel radang yang ditandai dengan banyaknya makrofag alveolar berupa akumulasi neutrofil pada matriks ekstraseluler septa interalveoli.

Neutrofil dan makrofag memegang peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, sel imun tersebut dapat memproduksi dalam jumlah banyak jika partikel yang masuk bersifat sangat toksik (Purnama dan Samik, 2014). Produksi neutrofil dan makrofag yang meningkat akan menyebabkan penebalan pada septa interalveolaris. Kerusakan lain yang ditemukan pada histopatologi organ pulmo tikus putih yang diberikan paparan uap rokok elektrik adalah pelebaran lumen alveoli. Makrofag alveolar yang teraktivasi akan mensekresikan senyawa sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan faktor kemotatik *Interleukin-8* (IL8). Aktivitas ini mengakibatkan terjadinya fibrosis pada jaringan pulmo. Nikotin pada rokok elektrik dapat memicu pelepasan fibronectin yang menyebabkan fibrosis pada parenkim organ pulmo yang dapat merusak jaringan elastin pada pulmo sehingga menyebabkan pelebaran lumen alveoli.

Nikotin merupakan zat yang menyerupai molekul asetilkolin yaitu salah satu neurotransmitter penting yang berada pada otak (USDHHS, 2010). Asetilkolin pada sistem pernafasan berperan penting dalam pengaturan tonus bronkomotor yaitu reflek parasimpatis yang dapat menyebabkan kontriksi pada bronkus. Nikotin dalam rokok elektrik akan bekerja menghambat proses asetilkolinerasi pada organ pulmo sehingga menyebabkan terjadinya akumulasi asetilkolin yang

merangsang bronkus untuk berkonstriksi dan menyebabkan destruksi pada dinding alveoli. Proses tersebut akan menyebabkan peningkatan aktivasi dari Granuloma atau Bronchus Associated Lymphoid Tissue (BALT).

### G. KERANGKA TEORI

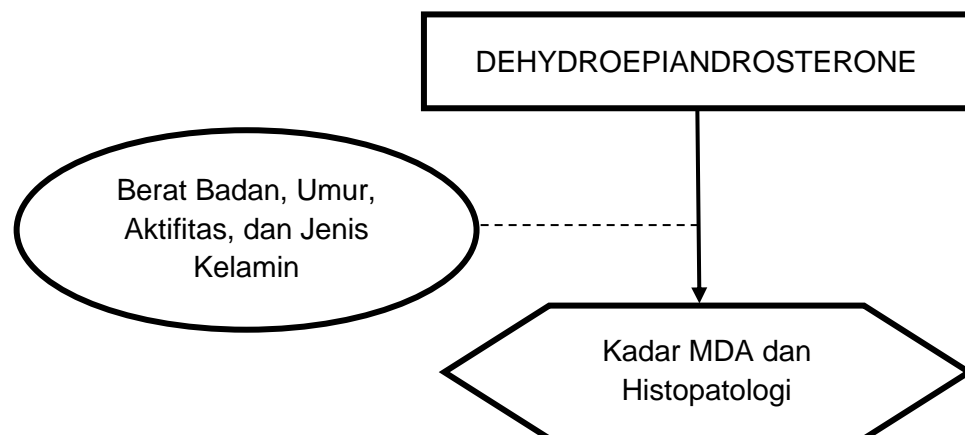


Gambar 2.4 Kerangka Teori

Keterangan:

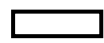
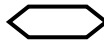

- Efek protektif DHEA
- Efek pemaparan asap rokok

### H. KERANGKA KONSEP



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

Keterangan:

-  : Variabel Independen
-  : Variabel Dependen
-  : Variabel Kontrol

## I. HIPOTESIS

1. Hipotesis Nol (H<sub>0</sub>)
  - a. Tidak ada pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap aktivitas peroksidasi lipid yang terjadi akibat paparan asap rokok melalui pemeriksaan kadar *malondialdehyde* (MDA) organ paru.
  - b. Tidak ada pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap gambaran histopatologi paru-paru tikus Wistar jantan yang terpapar asap rokok yang diamati berdasarkan skor parameter kerusakan histopatologi paru-paru.
2. Hipotesis Alternatif (H<sub>A</sub>)
  - a. Ada pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap aktifitas peroksidasi lipid yang terjadi akibat paparan asap rokok melalui pemeriksaan kadar *malondialdehyde* (MDA) organ paru-paru.
  - b. Ada pengaruh pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap gambaran histopatologi paru-paru tikus Wistar jantan yang terpapar asap rokok yang diamati berdasarkan skor parameter kerusakan histopatologi paru-paru.