

**EFEKTIVITAS ANTIOKSIDA ASTAXANTHIN DENGAN MENILAI KADAR
GLUTATHION (GSH) TIKUS JANTAN WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**

**ANTIOXIDANT EFFECTIVENESS OF ASTAXANTHIN BY ASSESSING
GLUTATHION (GSH) CONDITIONS OF WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*)
EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE**



YUNIARTI ARBAIN

P062211038



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

2024

**EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASTAXANTHIN DENGAN
MENILAI KADAR *GLUTATHIONE* (GSH) TIKUS JANTAN
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERPAPAR ASAP
ROKOK**

YUNIARTI ARBAIN

P062211038



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASTAXANTHIN DENGAN
MENILAI KADAR *GLUTATHIONE* (GSH) TIKUS JANTAN
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERPAPAR ASAP
ROKOK**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

YUNIARTI ARBAIN

P062211038

Kepada

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

TESIS

**EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASTAXANTHIN DENGAN MENILAI KADAR
GLUTATHION (GSH) TIKUS JANTAN WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**

YUNIARTI ARBAIN

P062211038

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal
22 Februari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pada

Program Studi Ilmu Biomedik
Konsentrasi Aging and Regenerative Medicine
Fakultas Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

dr. Arif Santoso, Sp.P., Ph.D., FAPSR.
NIP. 19770715 200604 1 012

dr. Mubammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.A., DFM.
NIP. 19770409 200212 1 002

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik,

Dekan Fakultas Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,

Prof. dr. Rahmawati, Ph.D., Sp.PD-KHOM., FINASIM.
NIP. 19680218 199903 2 002

Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.MedEd.
NIP. 19610308 199003 1 001

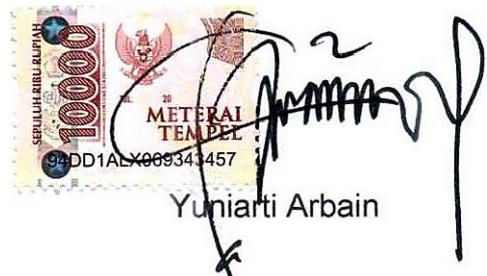
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Efektivitas Antioksidan Astaxanthin dengan Menilai Kadar *Glutathion* (GSH) Tikus Jantan Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Terpapar Asap Rokok” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing dr. Arif Santoso., Sp.P.,Ph.D.,FAPSR. sebagai Pembimbing Utama dan dr. Muhammad Husni Cangara., Ph.D., Sp.A., DFM., sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. aaSebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal *Community Practitioner*, Vol. 21 Issue 01, DOI: 10.5281/zenodo.10622709 sebagai artikel dengan judul “*Antioxidant Effectiveness of Astaxanthin by Assesing Glutathion (GSH) Conditions of Wistar Rats (Rattus norvegicus) Exposed to Cigarette Smoke*”. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 22 Februari 2024

Yang menyatakan,



Yuniarti Arbain

Ucapan Terima Kasih

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Alhamdulillah Puji Syukur kehadiran Allah SWT., yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas limpahan berkat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul **“EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASTAXANTHIN DENGAN MENILAI KADAR GLUTATHIONE (GSH) TIKUS JANTAN WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERPAPAR ASAP ROKOK”** yang sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan studi di Program Studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan kritikan yang membangun dari segala pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih yang tulus kepada **dr. Arif Santoso., Sp.P., Ph.D., FAPSR**, selaku Ketua Komisi Penasihat dan **dr. Muhammad Husni Cangara., Ph.D. Sp.A., DFM**, selaku Anggota Komisi Penasihat, serta kepada Tim Penguji tesis saya **Dr. dr. Irfan Idris., M.Kes., dr. Firdaus Hamid., Ph.D.**, dan **dr. Aminuddin., M.Nut&Diet., Ph.D.**, yang telah memberi kesediaan waktu, saran serta bimbingan sejak masa perkuliahan hingga penyusunan hasil penelitian ini.

Pada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Orang tua tercinta, atas doa tulus, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan semangat maupun materi selama ini.
2. dr. Arif Santoso., Sp.P., Ph.D., FAPSR, selaku pembimbing utama sekaligus ketua konsentrasi kimia klinik yang senantiasa memberikan bantuan, bimbingan, motivasi dan dukungan kepada penulis sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
3. dr. Muhammad Husni Cangara., Ph.D. Sp.A., DFM, selaku pembimbing damping yang senantiasa memberikan bantuan, bimbingan, motivasi dan dukungan kepada penulis sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
4. Seluruh Dosen dan Staf Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran serta bantuan selama penulis menjalani masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini.
5. Seluruh dokter hewan dan staf, Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Hasanuddin Makassar, telah memberi izin dan membantu dalam proses persiapan dan pengujian sampel hewan dalam penelitian ini.
6. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.

7. Kepala dan staf *Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center*, telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.
8. Seluruh keluarga tercinta yang tidak dapat penulis sebut satu persatu, yang senantiasa memberikan semangat, bantuan, motivasi pada penulis dalam menyelesaikan proses pendidikan magister ini.
9. Teman – teman S2 Ilmu Biomedik angkatan 2021 yang saya banggakan, atas semua ilmu dan bantuannya selama proses perkuliahan.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan dan bantuan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhir kata penulis ucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung. Penulis berharap tesis ini dapat memberikan sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Biomedik khususnya konsentrasi Kimia Klinik di masa mendatang.

Wassalam.

Makassar, 22 Februari 2024

Penulis,

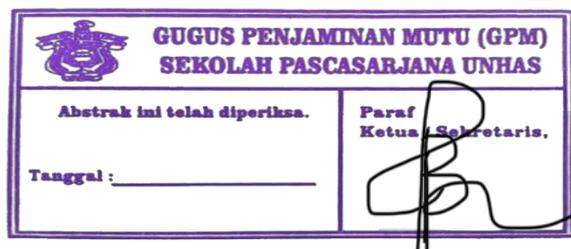
Yuniarti Arbain

ABSTRAK

YUNIARTI ARBAIN. *Efektifitas Antioksidan Astaxanthin dengan Menilai Kadar Glutathione (GSH) Tikus Jantan Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Terpapar Asap Rokok* (dibimbing oleh **Arif Santoso** dan **Muhammad Husni Cangara**).

Asap rokok sangat banyak mengandung campuran racun yang kompleks, beberapa dari racun tersebut adalah radikal bebas. *Glutathione* (GSH) adalah antioksidan yang ada di hampir setiap sel dalam tubuh. Satu di antara contoh antioksidan eksogen adalah astaxanthin, suatu karotenoid yang banyak terdapat pada organisme laut. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas antioksidan astaxanthin dengan menilai kadar glutathione (GSH) tikus jantan Wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok. Penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *post-test control group design*, dengan mengelompokkan sampel hewan dalam 4 kelompok yang terdiri masing-masing 5 ekor hewan uji, kelompok K- (udara segar + aquadest 5 mL/ ekor pagi dan siang); kelompok K+ (asap rokok 2 batang/ hari + aquadest 5 mL/ ekor pagi dan siang); kelompok KP1 (asap rokok 2 batang/ hari + astaxanthin 12 mg/ ekor pagi dan siang); kelompok KP2 (asap rokok 5 batang/ hari + astaxanthin 12 mg/ekor pagi dan siang). Setelah 28 hari percobaan, sampel serum hewan uji diperiksa kadar GSH menggunakan metode ELISA dan sampel jaringan paru-paru dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan H&E. Hasil penelitian ini tidak terdapat perbaikan kadar GSH serum yang signifikan setelah perlakuan dengan nilai $p=0,096$. Terdapat perbedaan signifikan ($p=0.001$) skor inflamasi paru pada semua kelompok penelitian. Disimpulkan astaxanthin tidak signifikan terhadap perbaikan kadar GSH serum, tetapi memperbaiki derajat kerusakan paru tikus, semakin tinggi dosis astaxanthin yang diberikan maka semakin tinggi efektivitas perbaikan derajat kerusakan paru tikus yang terpapar asap rokok.

Kata kunci: *asap rokok, astaxanthin, glutathione, antioksidan.*



ABSTRACT

YUNIARTI ARBAIN. *Antioxidant Effectiveness of Astaxanthin by Assessing Glutathion (GSH) Conditions of Wistar Rats (Rattus norvegicus) Exposed to Cigarette Smoke* (Guided by **Arif Santoso** and **Muhammad Husni Cangara**).

Cigarette smoke contains a complex mixture of toxins, including free radicals. Glutathione (GSH), an antioxidant, is present in nearly every cell in the body. Astaxanthin, a carotenoid found in many marine organisms, serves as an example of an exogenous antioxidant. This study aimed to evaluate the antioxidant effectiveness of astaxanthin by assessing the levels of GSH in male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) exposed to cigarette smoke. This research employed a laboratory experimental study with a post-test control group design. Animal samples were grouped into four groups, each consisting of five test animals: group K- (fresh air + 5 mL distilled water in morning and afternoon); K+ group (2 cigarettes smoke/day + 5 mL distilled water in morning and afternoon); group KP1 (cigarette smoke 2 cigarettes/day + astaxanthin 12 mg in morning and afternoon); group KP2 (cigarette smoke 5 cigarettes/day + astaxanthin 12 mg in morning and afternoon). After 28 days of experimentation, serum samples from rats were examined for GSH levels using the ELISA method, and lung tissue samples were subjected to histopathological examination using H&E staining. This study showed no significant improvement in serum GSH levels after treatment ($p=0.096$). However, there was a significant difference ($p=0.001$) in lung inflammation scores across all study groups. In conclusion, while astaxanthin did not significantly improve serum GSH levels, it did improve the degree of lung damage in mice. The higher the dose of astaxanthin administered, the greater the effectiveness in improving the degree of lung damage in mice exposed to cigarette smoke

Keyword : *cigarette smoke, astaxanthin, glutathione, antioxidant*

	
GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN JUDUL -----	i
PERNYATAAN PENGAJUAN -----	ii
HALAMAN PERSETUJUAN -----	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS -----	iv
UCAPAN TERIMA KASIH -----	v
ABSTRAK-----	viii
ABSTRACT-----	ix
DAFTAR ISI -----	x
DAFTAR TABEL -----	xii
DAFTAR GAMBAR -----	xiii
DAFTAR LAMPIRAN-----	xiv
DAFTAR SINGKATAN-----	xv
BAB I PENDAHULUAN-----	1
A. Latar Belakang -----	1
B. Rumusan Masalah -----	1
C. Tujuan Penelitian-----	4
D. Manfaat Penelitian -----	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA-----	6
A. Asap Rokok-----	6
B. Astaxanthin-----	11
C. Glutathion -----	12
D. Antioksidan -----	13
E. Pengaruh Asap Rokok Terhadap Stes Oksidatif -----	17
F. Kerangka Teori-----	18
G. Kerangka Konsep -----	19
H. Hipotesis-----	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN -----	21

A. Desain Penelitian-----	21
B. Lokasi dan Waktu Penelitian -----	21
C. Populasi dan Sampel Penelitian-----	22
D. Alat dan Bahan -----	23
E. Prosedur Penelitian -----	24
F. Definisi Operasioal -----	28
G. Izin Penelitian dan Etik -----	29
H. Analisis Data -----	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN-----	30
A. Hasil Penelitian -----	30
B. Pembahasan -----	39
C. Limitasi Penelitian-----	
BAB V PENUTUP-----	
A. Kesimpulan -----	
B. Saran -----	
DAFTAR PUSTAKA -----	
LAMPIRAN -----	

DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
1. Perbedaan Kadar GSH Serum Sebelum dan Sesudah Perlakuan -----	32
2. Uji Perbandingan K- dan K+ -----	34
3. Uji Perbandingan K- dan KP1 -----	34
4. Uji Perbandingan K- dan KP2 -----	35
5. Uji Perbandingan K+ dan KP1 -----	35
6. Uji Perbandingan K+ dan KP2 -----	36
7. Uji Perbandingan KP1 dan KP2 -----	36

DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Perbedaan Rokok Filter dan Rokok Kretek -----	10
2. Kerangka Teori -----	18
3. Kerangka Konsep -----	19
4. Diagram rata – rata berat badan tiap kelompok penelitian -----	30
5. Diagram rata – rata kadar GSH serum tiap kelompok penelitian -----	31
6. Diagram rata – rata skor inflamasi dari pemeriksaan histopatologi paru. Data disajikan dalam Mean \pm SD ---	33
7. Hasil histopatologi paru hewan coba -----	38

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Halaman
1. Perbandingan Kadar GSH Serum Sebelum dan Sesudah Perlakuan	12
2. Uji Perbandingan K- dan K+	32
3. Uji Perbandingan K+ dan KP1	34
	34
	35

DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN DAN LAMBANG

Istilah	Arti dan Penjelasan
Antioksidan	zat alami ataupun buatan manusia yang dapat mencegah atau menunda beberapa jenis kerusakan sel akibat proses oksidasi oleh oksidan
Oksidasi	reaksi yang mengalami peningkatan bilangan oksidasi dan penurunan elektron
Perokok Aktif	orang yang mengkonsumsi rokok secara rutin dengan sekecil apapun walaupun itu hanya satu batang dalam sehari
Perokok Pasif	orang yang menghirup asap rokok dari perokok aktif
Radikal Bebas	molekul yang kehilangan satu buah elektron dari pasangan elektron bebasnya.
Reduksi	reaksi yang mengalami penurunan bilangan oksidasi dan peningkatan elektron
Stres Oksidatif	ketikseimbangan antara radikal bebas (pro oksidan) dan antioksidan yang dipicu dua kondisi yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan radikal bebas

Lambang/singkatan	Arti dan Penjelasan
CO	Monoksida
ETS	<i>Environment Tobacco Smoke</i>
GATS	<i>Global Health Tobacco Survey</i>
GPx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
GSH	<i>Glutathione</i>
HCN	Hidrogen sianida
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
K	Kelompok
MDA	Malondialdehyde
NO	Nitrogen
O	Oksigen
PPOK	Penyakit Paru Obstruksi Kronik
RF	Rokok Filter
RNF	Rokok Non Filter
RNS	Reactive Nitrogen Species

ROS	Reactive Oxygen Species
SHS	<i>Secondhand Smoke</i>
SOD	<i>Superoxide dismutase</i>
THS	<i>Third Hand Smoke</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Berdasarkan pada data dari Organisasi Kesehatan Dunia (*World Health Organization* [WHO]), sepertiga dari 1,3 miliar perokok berasal dari penduduk dunia yang berusia 15 tahun ke atas. Masalah kesehatan bisa disebabkan oleh kebiasaan merokok. Merokok berdampak buruk terhadap pemakaiannya (perokok aktif) serta orang lain di sekitarnya (perokok pasif) (Alviaventiasari, S.R. 2012).

Mayoritas penduduk dunia terkena dampak rokok, yang menyebabkan banyak masalah kesehatan yang rumit. Sekitar 90% pada pria terkena kanker paru-paru dan pada wanita sekitar 70% diduga disebabkan oleh kebiasaan merokok. Di negara-negara industri, merokok bertanggung jawab atas kejadian penyakit pernapasan kronis sekitar 56% dan penyakit kardiovaskuler sebanyak 22% (Alviaventiasari, S.R. 2012).

Sekitar 68,6 juta perempuan dan 43 juta anak-anak terpapar asap rokok (perokok pasif) di Indonesia. Banyak masyarakat Indonesia yang terpapar asap rokok diakibatkan sebanyak 91,8% perokok aktif merokok dalam rumah (Hanum, 2016).

Beberapa campuran rancun yang kompleks terkandung dalam asap rokok, salah satunya adalah radikal bebas. Asap rokok dalam bentuk gas dan padat mengandung bahan kimia yang berbeda – beda. Bentuk gas mengalami oksidasi sedangkan bentuk partikulat terjadi reduksi (Kriana Efendi & Dwitiyanti. 2020).

Radikal bebas yang utamanya dihasilkan karena asap rokok. Risiko dari merokok terdapat pada kelompok perokok aktif ataupun perokok pasif. Sebesar 30% perokok pasif berpeluang terkena gangguan kesehatan akibat paparan dan asap yang dihirup yang dihasilkan oleh perokok aktif (Suryadinata V.R et al. 2016).

Glutathion (GSH) merupakan tripeptida yang terdiri dari asam amino glutamat (Glu), sistein (Cys), serta glisin (Gly). Aktivitas kimia *glutathione* menjadikannya sebagai antioksidan, karena *glutathione* dapat bereaksi secara kimia dengan oksigen tunggal, radikal peroksida, serta radikal hidroksil, sekaligus bertindak secara langsung sebagai pemulung radikal bebas. *Glutathione* dapat membantu menstabilkan struktur dari membran dengan cara menghambat ataupun mengurangi pembentukan dari peroksida didalam reaksi peroksida lipid (Winarsi, 2007).

Keadaan stres fisik, infeksi, serta paparan radikal bebas yang berlebihan mengakibatkan kapasitas antioksidan tidak dapat mencukupi dalam menangkal radikal bebas. Saat mengalami stres oksidatif, pertahanan tubuh terhadap molekul oksidan yang masuk baik dari dalam maupun dari luar tubuh mengalami penurunan, sehingga mengkonsumsi

lebih banyak antioksidan dapat membantuk mencegah kerusakan oksidatif (Duthie G, et al. 1999; Menvielle-Bourge F. 2005).

Peran antioksidan adalah menghambat atau menunda kerusakan dari molekul lain (Hamid, dkk., 2010). Astaxanthin dan antioksidan eksogen lainnya, yaitu karotenoid, terdapat dalam berbagai organisme laut. Astaxanthin adalah sumber antioksidan yang sangat baik. Dibandingkan dengan potensi antioksidannya, ia 100 kali lebih besar dibandingkan α -tokoferol dan 40 persen lebih besar dibandingkan dengan β -karoten. Akan tetapi, astaxanthin bukanlah prooksidan seperti karotenoid lainnya (Auliya Tania Alkadrie. 2017).

Astaxanthin lebih mudah diserap oleh radikal peroksil dan asam hipoklorit dibandingkan α -tokoferol, lutein, asam askorbat, dan likopen. Astaxanthin mencegah pembentukan membran peroksida, sedangkan lutein dan karoten mengganggu struktur dengan meningkatkan residu asam lemak dalam zat tersebut. Hasil ini menunjukkan bahwa astaxanthin menunjukkan aktivitas antioksidan lebih banyak dibandingkan karotenoid dan tokoferol lainnya (Guerin M, et al. 2003).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah paparan asap rokok yang merupakan sumber radikal bebas dapat menurunkan kadar glutathione dan mengetahui efek antioksidan astaxanthin yang merupakan penangkal radikal bebas.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pendahuluan di atas, maka peneliti dapat membuat rumusan masalah yakni “bagaimanakah efektivitas antioksidan astaxanthin dengan menilai kadar *glutathion* tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui bagaimana efektivitas antioksidan astaxanthin dengan menilai kadar *glutathion* tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui aktivitas paparan asap rokok sebagai radikal bebas.
- b. Untuk mengetahui efektivitas astaxanthin dalam meningkatkan kadar *glutathion* tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar informasi ilmiah bagi para peneliti yang akan melakukan penelitian serupa, serta dapat bermanfaat sebagai sumber informasi kepada masyarakat khususnya tenaga kesehatan terkait efektivitas antioksidan astaxanthin

dalam meningkatkan kadar glutathion pada tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok.

2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan referensi dan sebagai data awal bagi peneliti selanjutnya mengenai efektivitas antioksidan astaxanthin dalam meningkatkan kadar glutathion tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Asap Rokok

Rokok menghasilkan dua jenis asap yang berbeda yakni asap utama (*main stream smoke*) dan asap sampingan (*side stream smoke*). *Main stream smoke* merupakan asap yang dihirup langsung oleh perokok, sedangkan *side stream smoke* merupakan asap yang disebarkan ke udara bebas oleh perokok (perokok pasif) (Fawzani N, & Triratnawati A. 2005; dalam Rifki YS, et al. 2016).

Asap tembakau merupakan zat yang mencemari manusia serta lingkungan sekitar. Stres oksidatif disebabkan karena adanya senyawa radikal bebas yang terdapat pada asap tembakau. Radikal bebas bertanggung jawab atas kejadian peroksidasi lipid dan kerusakan organisasi membran sel dalam tubuh selama stres oksidatif, sehingga organ paru-paru membesar dan jumlah makrofag terjadi peningkatan (I Gde Haryo Ganesha, et al. 2020).

Asap rokok terdiri dari campuran bahan kimia berbentuk gas dan partikel yang tersebar di dalamnya. Hingga saat ini, hingga 4.000 senyawa telah diisolasi dari asap rokok (Maula, L.F. 2014).

Asap rokok, juga dikenal sebagai asap rokok lingkungan atau *Environment Tobacco Smoke* (ETS), yang berasal dari asap rokok yang dibakar dan asap rokok yang dihembuskan oleh perokok aktif paparan asap

rokok yang berlebihan di sekitar atau paparan melalui ETS sering kali digantikan dengan perokok pasif dan perokok tidak sengaja. Perokok pasif, menurut definisi WHO, adalah paparan asap rokok dari lingkungan setidaknya selama lima belas menit setiap hari (lebih dari satu minggu). Di antara 4000 senyawa kimia yang terdapat dalam rokok, nikotin merupakan salah satu dari tiga senyawa utama. Nikotin, tar, dan karbon monoksida. Jumlah zat berbahaya sebanyak 400, sedangkan penyebab kanker sebanyak 43 jenis (Calis, KA. 2013).

Meskipun sebagian besar zat atau senyawa beracun ditemukan dalam bentuk gas, seperti karbon monoksida (CO), hidrogen sianida (HCN), dan oksida nitrat (NO), namun seringkali menjadi racun jika dikonsumsi sebagai bahan kimia yang mudah menguap seperti nitrosamin dan formaldehida yang juga dapat dianggap beracun. Selain itu, rokok mengandung nitrogen oksida, yang mengurangi antioksidan intraseluler dan terlibat dalam pembentukan radikal O^* , H_2O_2 , dan HO^* . Zat yang berasal dari rokok dapat menyebabkan akumulasi lebih banyak radikal bebas (Febriana L. et al. 2016; Muaja, L.F. 2014).

Pencemaran udara pada lingkungan disebabkan oleh Asap Tembakau Lingkungan (asap rokok). Orang yang menghirup ETS adalah perokok pasif atau perokok pasif. Individu yang merokok secara pasif terpaksa menghirup asap rokok dari lingkungan sekitarnya. Asap rokok tidak langsung menguap ke udara, melainkan residu nikotin yang menumpuk di debu atau benda di sekitarnya, seperti pakaian, karpet,

dinding, furnitur, atau kursi. Debu nikotin tidak mudah dihilangkan oleh orang lain, bahkan setelah berhenti merokok (Willer *et al.*, 2005; Hoh *et al.*, 2012).

Rokok yang dibakar menghasilkan asap rokok, suatu senyawa kimia yang mencemari udara dalam ruangan. Asap rokok yang masuk ke paru-paru seorang perokok disebut asap arus utama, dan asap rokok sampingan adalah jenis yang menyala di kedua ujung setiap batang rokok. Penelitian tentang perokok pasif saat ini sedang dilakukan. Perokok pasif atau *third hand smokers* (THS) mengacu pada seseorang yang sedang terpapar zat berbahaya yang terdapat dalam asap rokok meskipun THS tidak melakukan kontak langsung dengan perokok aktif (Hotma Royani S, *et al.* 2021).

Merokok telah dilaporkan oleh beberapa institusi dan penelitian sebagai sebagai faktor risiko berbagai masalah kesehatan khususnya pada anak-anak. India salah satu negara dengan jumlah perokok aktif terbesar ketiga setelah negara Tiongkok, Rusia, dan Amerika Serikat. Pada tahun 2013, populasi perokok di Indonesia berjumlah 33% dari total penduduk Indonesia, atau mengonsumsi 225 miliar batang rokok setiap tahunnya. Tingkat perokok pria dan wanita di Indonesia masing-masing sebesar 67,4% dan 4,5%, seperti yang dilaporkan oleh Global Adult Tobacco Survey (GATS) (WHO, 2015).

Menghirup asap rokok mengakibatkan adanya gas dan komponen partikel baik bagi perokok aktif maupun pasif. Menurut Karim (2011)

komponen gas terdiri dari senyawa nitrogen dan hidrokarbon sedangkan komponen partikel terdiri dari nikotin, tar, benzopyrene, fenol, serta kadmium.

Rokok terbagi dibagi menjadi beberapa jenis diantaranya dapat dilihat berdasarkan: (APTI 2013).

1. Bahan baku atau isi

- a. Rokok putih : rokok yang dibuat hanya dari daun tembakau yang diberi aroma tertentu.
- b. Rokok kretek : rokok yang dibuat dari daun tembakau serta penambahan daun cengkeh yang kemudian diberikan aroma tertentu.
- c. Rokok klembek : rokok yang dibuat dari campuran bahan baku seperti tembakau, cengkeh, serta menyan yang kemudian diberikan aroma tertentu.

2. Rokok berdasarkan penggunaan filter

- a. Rokok filter (RF) : rokok yang mempunyai sumbat berupa gabus pada pangkal rokok.
- b. Rokok non filter (RNF) : rokok yang tidak mempunyai sumbat berupa gabus pada pangkal rokok.
- c. Rokok kretek (RNF) rokok yang terkandung 60 hingga 70% tembakau, sisanya 30 hingga 40% adalah cengkeh dan bahan baku lainnya. Rokok kretek dilaporkan lebih berbahaya daripada rokok putih (RF), karena mengandung kadar tar, nikotin atau karbon

monoksida yang lebih tinggi akibat adanya tembakau dalam bahan-bahan lainnya (Prabaningtyas 2010; APTI 2013).



Gambar 1. Perbedaan Rokok Filter dan Rokok Kretek

B. Astaxanthin

Astaxanthin merupakan super antioksidan dari keluarga karotenoid dengan struktur unik dan efisiensi tinggi. Astaxanthin memiliki kekuatan antioksidan 10 kali lebih besar dibandingkan beta-karoten. Efektivitasnya 100 hingga 500 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E. Penelitian Somoyani (2011) menunjukkan bahwa astaxanthin dapat mencegah gangguan spermatogenesis pada tikus akibat overtraining dan juga memiliki keuntungan karena kurangnya efek prooksidan seperti antioksidan lainnya (Yang, X., et al. 2019).

Pigmen xanthophyll karotenoid, seperti astaxanthin dan lipofosfolipid, melimpah di alam. Astaxanthin merupakan antioksidan super yang mampu

menetralkan radikal bebas, memodulasi reaksi tubuh, meningkatkan antioksidan, dan memiliki sifat antiinflamasi. Astaxanthin memiliki khasiat yang istimewa dibandingkan antioksidan lain seperti β -karoten, zeaxanthin, vitamin C, dan vitamin E. Astaxanthin dapat digunakan sebagai obat anti penuaan karena kemampuannya yang kuat. Memperbaiki keadaan penyakit sebelum keadaan normal. Tujuan dari penelitian ini yakni untuk memastikan bahwa masyarakat dapat menua dengan tetap menjaga produktivitas dan kualitas hidup yang baik (Lie, Andrew., et al. 2020).

Menurut Yang dkk. (2011), Astaxanthin mampu meningkatkan kadar *glutathione*, mekanisme perlindungan antioksidan endogen, melalui keterlibatan NRF2. Jalur NRF2 dapat mengaktifkan pertahanan antioksidan endogen dengan cara meningkatkan ekspresi dari beberapa enzim antioksidan, termasuk glutathione peroksidase, glutamin S transferase, dan heme oksigenase (Koolhaas, J., 2010). Astaxanthin adalah antioksidan yang memiliki kemampuan lebih besar untuk menoral berbagai ROS dan OS spektrum luas yang berbeda apabila dibandingkan dengan antioksidan lain seperti α -tokoferol, lutein, likopen, dan β -karoten (Rodrigues E., dkk., 2012). Astaxanthin memiliki kemampuan untuk memiliki sifat antioksidan yang lebih kuat karena struktur polar dan nonpolarnya yang dimilikinya. Astaxanthin berperan sebagai antioksidan dalam memberikan perlindungan pada sel – sel kulit serta organ vital, sekaligus astaxanthin dapat menghambat aktivitas patogen yang diakibatkan oleh stres oksidatif dalam tubuh manusia (Auliyah Tania, Alkadrie. 2020).

C. *Glutathion*

Glutathion merupakan antioksidan yang ada di hampir setiap sel tubuh. *Glutathion* bertanggungjawab dalam detoksifikasi obat-obatan dan xenobiotik. *Glutathion* adalah donor hidrogen dan membantu detoksifikasi H₂O. *Glutathion* juga berperan sebagai suplemen makanan, karena memiliki berbagai efek sistemik antara lain meningkatkan perlindungan terhadap penyakit hati, komplikasi diabetes, kekebalan terhadap penyakit menular, dan aktivitas anti-tumor (Pizzorno. 2014)

Glutathion terdapat dalam bentuk tereduksi (GSH) dan bentuk teroksidasi (GSSG), dan sebagian besar ada dalam bentuk tereduksi di dalam tubuh. *Glutathion* memberikan efek antioksidan dengan bertindak sebagai pemulung radikal bebas selama proses detoksifikasi reduktif hidrogen peroksida dan lipid peroksida. *Glutathion* merupakan donor elektron dalam sel mamalia. Selama proses donasi elektron, GSH diubah menjadi GSSG oleh *glutathion peroksidase*, dan kemudian direduksi kembali menjadi GSH oleh enzimnya sendiri, glutamin reduktase pada nikotinamida adenin dinukleofosfat. Berbagai fungsi fisiologis glutathione berhubungan dengan penghambatan pigmentasi putih dengan menghambat aktivitas tirosinase, sedangkan pemberian GSH oral pada manusia dapat menurunkan produksi melanin di kulit (Weschawalit et al. 2017).

Protein yang disebut glutathione menghambat produksi melanin dengan mencegah aktivitas enzimnya sendiri, tirosinase. *Glutathion*

mengaktifkan jalur pheomelanin, yang juga dapat menyebabkan kulit menjadi putih. Langkah pertama dalam produksi pheomelanin adalah produksi L dopaquinone, yang dihasilkan dari glutathione dan disintesis dari L tirosin. *Glutathionyl*dopa, yang sebelumnya dikenal sebagai sisteinilasi, dapat diproduksi melalui konjugasi L dopamin dengan *glutathion S transferase*. Induksi sisteinildopa menyebabkan perkembangan pheomelanin, yang tampak kuning-merah (Watanabe et al. 2014)

D. Antioksidan

1. Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah atau mengurangi efek negatif pada tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara menyumbangkan salah satu elektronnya kepada suatu senyawa yang bersifat oksidator, sehingga menghambat aktivitas zat pengoksidasi tersebut (Winarsi, 2007).

Istilah antioksidan mengacu pada molekul yang cukup stabil untuk menetralkan radikal bebas dengan mengkompensasi ketiadaan elektron, sehingga meminimalkan potensi kerusakannya (Dehpour et al., 2009). Konsentrasi rendah molekul-molekul ini dapat mengganggu reaksi berantai antara radikal bebas dan antioksidan (Renee et al., 2014). Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital atomnya. Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena kekurangan

satu elektron. Agar radikal bebas menjadi stabil, mereka harus mencuri elektron dari molekul lain di dalam sel tubuh (Lobo *et al.*, 2010).

Radikal bebas dinetralkan dan dirusak oleh zat antioksidan yang dibutuhkan tubuh untuk menyeimbangkan kekurangan elektrolit dan menghambat pembentukan rantai radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Zat-zat ini penting untuk menjaga kesehatan sel (Prakash 2001).

Radikal bebas dapat distabilkan dengan penggunaan senyawa antioksidan, khususnya flavonoid. Mekanisme antioksidan membantu menstabilkan molekul radikal bebas dengan mencegah pembentukan reaksi radikal bebas yang dapat membahayakan tubuh dengan memberikan lebih sedikit elektron ke molekul radikal bebas (Any Guntarti & Anita Ruliyani. 2020).

Untuk secara khusus melindungi terhadap efek radikal bebas, terdapat sistem pelindung atau pertahanan di dalam tubuh, yang meliputi enzim dan zat. Enzim katalase dan peroksidasi *glutathione* dapat melepaskan H_2O_2 , sedangkan superoksida dismutase dapat melepaskan O_2 sehingga membentuk H_2O_2 . Kemampuan antioksidan biologis, khususnya vitamin C, vitamin E, dan beta karoten, didukung oleh perannya dalam menangkal radikal bebas.

2. Jenis Antioksidan

Menurut Silalahi (2006), di dalam tubuh, antioksidan dapat terbagi menjadi tiga kelompok, yakni sebagai berikut:

1) Antioksidan primer

Mereka bekerja dengan mencegah pembentukan radikal bebas baru, sekaligus mengubah molekul radikal tersebut menjadi senyawa yang tidak berbahaya seperti glutathione peroksidase, flavonoid, dan senyawa tiol.

2) Antioksidan sekunder

Berfungsi menghilangkan radikal bebas dan mencegah reaksi berantai seperti vitamin C, vitamin E, dan beta-karoten.

3) Antioksidan tersier

Efektif untuk memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh radikal bebas, seperti enzim perbaikan DNA.

E. Pengaruh Asap Rokok Terhadap Stress Oksidatif

Penelitian yang dilakukan oleh I Gde Haryo Ganesha, dkk pada tahun 2020 mengemukakan bahwa asap tembakau bukan hanya berbahaya bagi lingkungan, tetapi berkontribusi juga terhadap kesehatan manusia. Adanya senyawa radikal bebas pada asap cerutu dapat mengakibatkan stres oksidatif. Radikal bebas dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan mengganggu pengorganisasian membran sel selama stres oksidatif, sehingga menyebabkan peningkatan kadar MDA dan peningkatan jumlah makrofag di paru-paru.

Dampak paparan asap tembakau terhadap berkembangnya berbagai penyakit disebabkan oleh ribuan radikal bebas dan oksidan yang

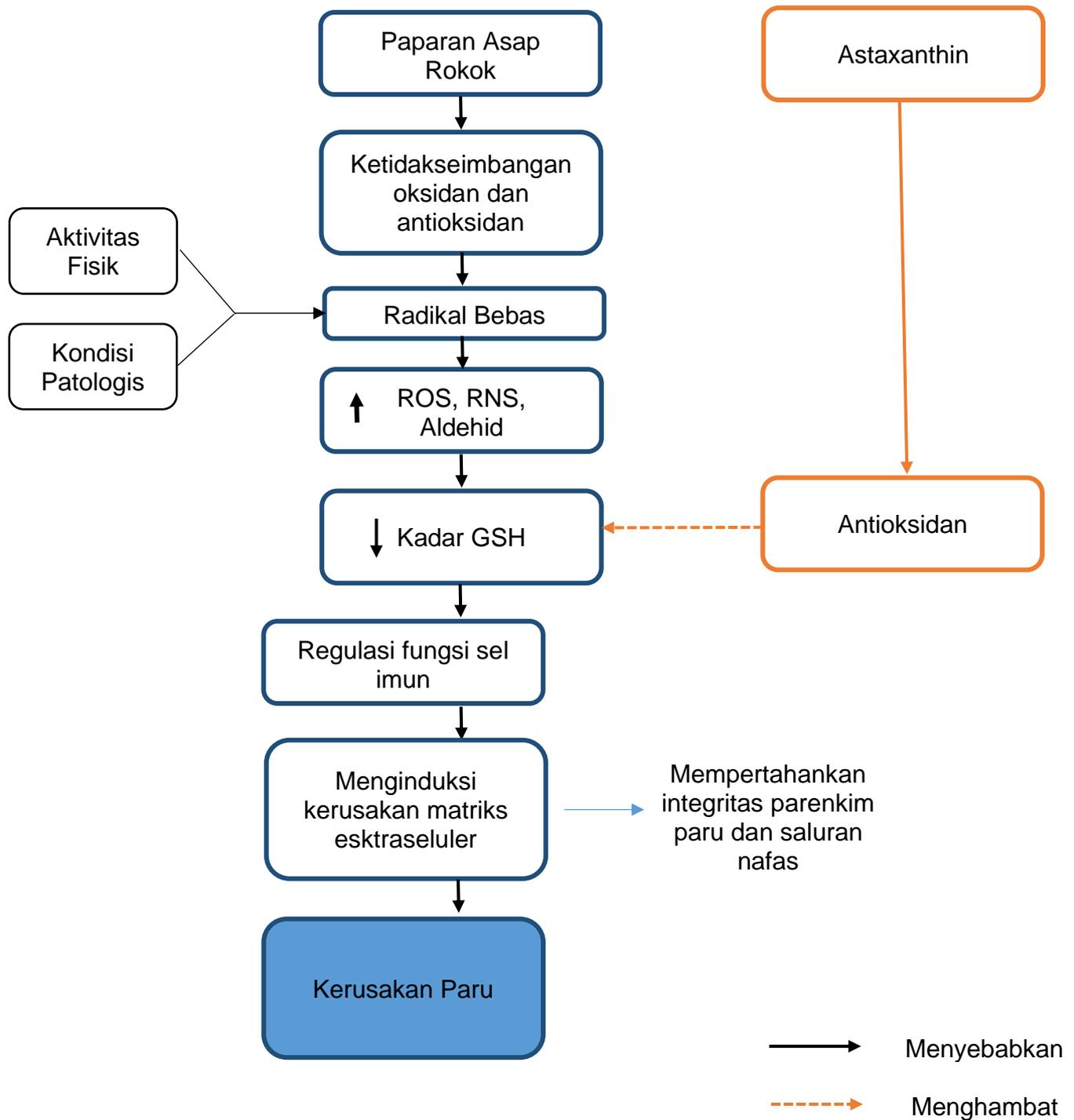
terkandung dalam asap tembakau (Manafa et al., 2017). Kehadiran radikal bebas dan oksidan menyebabkan ketidakseimbangan antara spesies oksigen reaktif (ROS) dan mekanisme pertahanan antioksidan endogen menyebabkan stres oksidatif (Valavanidis, Vlahojanni, & Fiotakis, 2009). Salah satu dampak negatif paparan asap tembakau adalah penurunan kadar glutathione peroksidase (GPx) (Safyudin dan Subandrat, 2016).

Penelitian Kardi (2016) menemukan bahwa infertilitas pada pria terutama disebabkan oleh stres oksidatif, yang sebagian besar penyebabnya adalah radikal bebas yang secara alami terdapat dalam asap rokok. Kehadiran spesies oksigen reaktif (ROS) dapat menyebabkan stres oksidatif, yang dapat menyebabkan disintegrasi sperma dan penurunan motilitas. Produksi ROS mungkin meningkat pada pria yang merokok dan terpapar polusi tingkat tinggi. Glutathione, antioksidan, berperan sangat penting dalam melindungi sperma dari ROS. Suplementasi glutathione diharapkan dapat mengatasi stres oksidatif yang dapat menyebabkan infertilitas pada pria.

Stres oksidatif mampu menyebabkan kejadian disfungsi seluler atau bahkan kematian sel dan merusak matriks ekstraseluler organ paru (Joshua, J. S. dan Thomas P. S., 2015). Stres oksidatif adalah mekanisme lain yang terlibat dalam patogenesis penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), dimana produksi ROS yang berlebihan mengganggu mekanisme pertahanan anti-toksik. Sel epitel alveolar dan endotchal, serta leukosit inflamasi yang memproduksi oksigenan dari asap rokok. Matriks

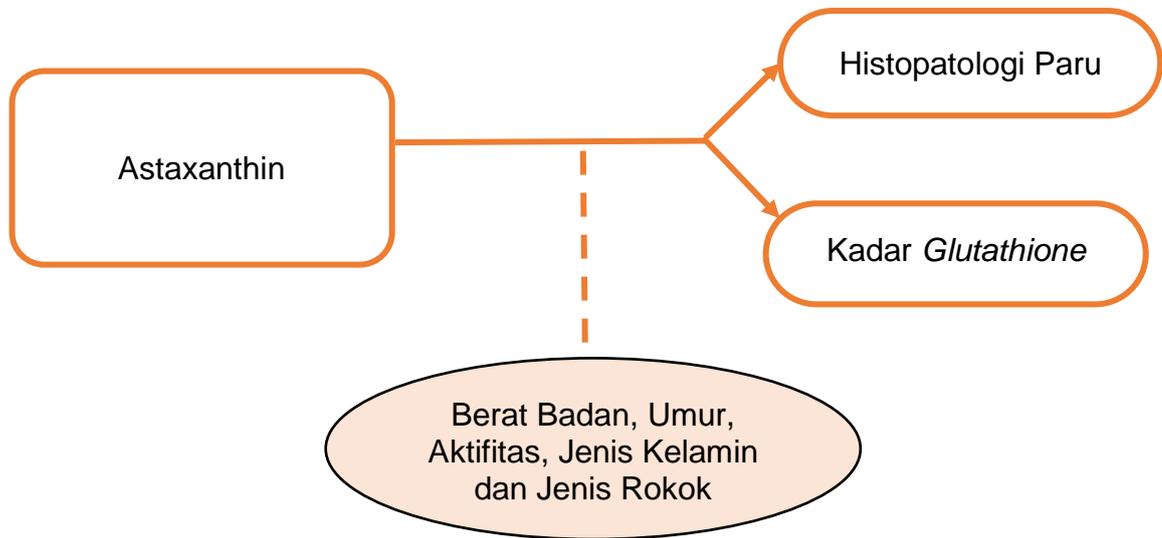
ekstraseluler paru-paru dapat rusak akibat stres oksidatif, menyebabkan disfungsi sel dan apoptosis (Kirkham PA, Barner PJ. 2013).

F. Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

G. Kerangka Konsep



Keterangan:

-  : Variabel independen
-  : Variabel dependen
-  : Variabel kontrol

Gambar 3. Kerangka Konsep

H. Hipotesis

1. Hipotesis Alternatif (Ha)

Antioksidan astaxanthin mampu memperbaiki kadar *glutathione* (GSH) Tikus Jantan Wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok.

2. Hipotesis Nol (H0)

Antioksidan astaxanthin tidak mampu memperbaiki kadar *glutathione* (GSH) Tikus Jantan Wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok.