

**PENGARUH PEMBERIAN JUS ALPUKAT (*Persea americana*  
M.) TERHADAP KADAR MDA DAN KADAR TNF- $\alpha$**

**(Studi Eksperimental Pada Tikus *Wistar* Jantan Yang Diberi  
Paparan Asap Rokok)**

**TESIS**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat  
Magister (S2)**



**Magister Ilmu Biomedik**

**Anita Putri Effendi  
MBK.20.16.010192**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG  
2022**

**TESIS**  
**PENGARUH PEMBERIAN JUS ALPUKAT (*Persea americana***  
**M.) TERHADAP KADAR MDA DAN KADAR TNF- $\alpha$**

**(Studi Eksperimental Pada Tikus *Wistar* Jantan Yang Diberi  
Paparan Asap Rokok)**

Disusun oleh :

**Anita Putri Effendi**  
**MBK.20.16.010192**

Akan dipertahankan didepan tim penguji tanggal 05 September 2022  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk diterima

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I



**Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF**

NIK. 210199049

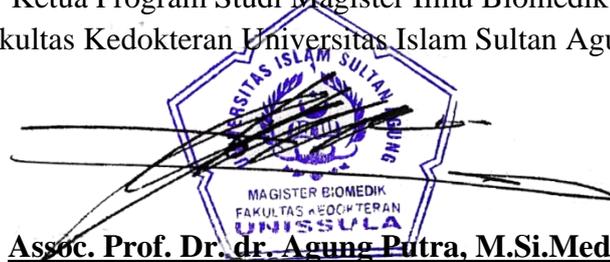
Pembimbing II



**Dr. Drs. Israhnanto Isradji, M.Si**

NIK. 210189027

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



**Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med**

NIK. 210199050

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka

Semarang, 05 September 2022



(Anita Putri Effendi)



## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Anita Putri Effendi  
Tempat / tanggal lahir : Samarinda, 06 Januari 1997  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

1. TK. Nuri Samarinda : Lulus tahun 2003
2. SDN 003 Samarinda : Lulus tahun 2009
3. SMP N 2 Samarinda : Lulus tahun 2012
4. SMK Kesehatan Samarinda : Lulus tahun 2015
5. DIV Analis Kesehatan UNIMUS : Lulus tahun 2019
6. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA : (2020 – sekarang)

### C. Riwayat Keluarga

Nama Orang Tua  
Ibu : Mahrita Zuaidah  
Ayah : Sofyan Effendy, SE  
Nama Saudara Kandung  
Saudara 1 : Abdurrahman  
Saudara 2 : Abdurrahim A. Md  
Adik : Ananda Rita Effendi

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa, atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga tesis dengan judul “*Pengaruh Pemberian Jus Alpukat (Persea americana M.) Terhadap Kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$* ” ini dapat diselesaikan.

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada :

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof Dr Gunarto SH. MHum
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH.,Sp.KF
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med selaku penguji pertama yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
4. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH.,Sp.KF atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Bapak Dr. Drs. Israhanto Isradji, M.Si selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Ibu Dr. Hj. Siti Thomas Zulaikhah, SKM.,M.Kes selaku penguji kedua yang telah meberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
7. Bapak Dr. dr. H. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji ketiga yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.

8. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami Ilmu Biomedik.
9. Ayahanda, Ibunda, Kakak, Adik, dan keluarga saya atas segala dukungan dan doanya.
10. Teman yang selalu ada dan sebagai penyemangat saya terima kasih atas segala motivasi, perhatian, dan dukungan yang telah diberikan selama ini.
11. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

***Wassalammua'laikum warohmatullahi wabarakatuh***

Semarang, 07 Juni 2022

Anita Putri Effendi

**PENGARUH PEMBERIAN JUS ALPUKAT (*Persea americana* M.)  
TERHADAP KADAR MDA DAN KADAR TNF- $\alpha$**

**(Studi Eksperimental Pada Tikus *Wistar* Jantan Yang Diberi  
Paparan Asap Rokok)**

**ABSTRAK**

**Latar Belakang** : Rokok merupakan sumber radikal bebas eksogen yang mengganggu keseimbangan radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh, yang mengakibatkan stres oksidatif. Stres oksidatif mengakibatkan kerusakan jaringan yang memicu reaksi inflamasi di sel endotel pembuluh darah yang ditandai dengan dilepaskannya mediator-mediator inflamasi berupa sitokin-sitokin terutama TNF- $\alpha$ . Untuk mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$

**Metode** : Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorium dengan pendekatan *post test only control group design*. Subyek penelitian sebanyak 20 ekor tikus *wistar* yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok secara acak yaitu K1, K2, K3, dan K4. Kelompok K1 diberikan pakan standard tanpa diberi paparan asap rokok dan K2 diberikan pakan standard yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari. Kelompok K3 dan K4 diberi jus alpukat dengan dosis 2,7 gram/200g BB/hari dan 5,4 gram/200g BB/hari. Pada hari ke 15, tikus *wistar* jantan kemudian diambil darahnya guna pemeriksaan kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$ . Data di analisis menggunakan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk*, uji homogenitas data dengan uji *Levene test* dan dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*.

**Hasil** : Rerata kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  tertinggi pada kelompok K2 dibanding kelompok K1, K3, dan K4. Uji *One Way Anova* pada kadar MDA dan TNF- $\alpha$  menunjukkan perbedaan signifikan terhadap antar kelompok dengan nilai  $p = 0,000$ .

**Kesimpulan** : Pemberian jus alpukat dengan dosis 2,7 gram/200g BB/hari dan 5,4 gram/200g BB/hari, dapat menurunkan kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* setelah pemberian asap rokok.

**Kata kunci** : Jus Alpukat, MDA, TNF- $\alpha$ , Asap Rokok

## EFFECT OF GIVING AVOCADO JUICE (*Persea americana* M.) ON MDA LEVELS AND TNF- $\alpha$ LEVELS

(Experimental Study on Wistar Male Rats Exposed to Cigarette Smoke)

### ABSTRACT

**Background:** A Cigarette is one of free oxygen radicals which have to interfere a free radical's balance and antioxidant in the body. It involves oxidative stress. The oxidative stress involves failure system that have trigger inflammation response. In endothelial cells blood vessel that have pinned exiting the inflammation reaction in the form of cytokines especially TNF- $\alpha$ . It functioned to know the effect of awarding avocado juice to MDA and TNF- $\alpha$ .

**Method:** This research used the experimental laboratory method that approached *post test only control group design*. The subject of this research used 20 wistar rats which kind of inclusion. It shared in 4 sections as random services. Such as K1, K2, K3 and K4. K1 have given a standart weft. It have been done without smoking display. Meanwhile, K2 have given a standart weft that have used smoking display during 14 days. K3 and K4 have given avocado juice dose. It was as much as 2,7g/200g weight/days and 5,4g/200g weight/days. On the fifth day, the specimen have taken the blood. It could know the results of MDA and Tnf-a. The data analysis used the normality test by *Shapiro Wilk*, homogeneity, *Levene*, and *one way anova* test.

**The Result:** The result of this research have a highest rate. The highest rate was K2. It could be proven for *One Way Anova* test in MDA and Tnf rate. It showed the difference significant to between categories. Which is  $p=0,000$  scores.

**The Conclusion:** The conclusion of this research have been giving the avocado juice with 2,7g/200g weight/days and 5,4g/200g weight/days. Then it could reduce the MDA and Tnf-a rate on the wistar rat. It have been since giving the smoking display.

**Keyword:** *Avocado Juice, MDA, Tnf, Smoking Display*

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b><i>i</i></b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b><i>ii</i></b>
<b>PERNYATAAN.....</b>	<b><i>iii</i></b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b><i>iv</i></b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b><i>v</i></b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b><i>vii</i></b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b><i>viii</i></b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b><i>ix</i></b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b><i>xiii</i></b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b><i>xiv</i></b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b><i>xv</i></b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b><i>xvi</i></b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1. 1. Latar Belakang .....	1
1. 2. Rumusan Masalah .....	3
1. 3. Tujuan Penelitian.....	4
1. 3. 1. Tujuan Umum.....	4
1. 3. 2. Tujuan Khusus.....	4
1. 4. Originalitas Penelitian .....	4
1. 5. Manfaat Penelitian.....	6
1. 5. 1. Manfaat Teoritis .....	6

1. 5. 2. Manfaat Praktis.....	6
-------------------------------	---

## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

2. 1. <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	7
2. 1. 1. Definisi <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	7
2. 1. 2. Mekanisme MDA.....	8
2. 1. 3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar MDA.....	9
2. 1. 4. Pengukuran MDA.....	10
2. 2. <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (TNF- $\alpha$ ).....	10
2. 2. 1. Definisi TNF- $\alpha$ .....	10
2. 2. 2. Aktivitas Biologis TNF- $\alpha$ .....	11
2. 2. 3. Mekanisme TNF- $\alpha$ .....	12
2. 2. 4. Transduksi Sinyal TNF- $\alpha$ .....	14
2. 2. 5. Fungsi TNF- $\alpha$ .....	15
2. 2. 6. Hubungan TNF- $\alpha$ dengan Rokok.....	16
2. 3. Alpukat ( <i>Persea americana</i> M.).....	18
2. 3. 1. Taksonomi Buah Alpukat.....	19
2. 3. 2. Kandungan Alpukat.....	19
2. 3. 3. Manfaat Alpukat.....	21
2. 3. 4. Buah Alpukat sebagai Antioksidan.....	22
2. 4. Asap Rokok.....	23
2. 4. 1. Definisi Asap Rokok.....	23
2. 4. 2. Bahan yang terkandung dalam Asap Rokok.....	24
2. 4. 3. Asap Rokok Sebagai Radikal Bebas.....	27

2. 5. Pengaruh Pemberian Jus Alpukat terhadap Kadar MDA, Morfologi dan Konsentrasi Sperma pada Paparan Asap Rokok.....	30
--	----

### **BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS**

3. 1. Kerangka Teori.....	33
3. 2. Kerangka Konsep.....	36
3. 3. Hipotesis.....	36

### **BAB IV. METODE PENELITIAN**

4. 1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	37
4. 2. Populasi dan Sampel Penelitian.....	38
4. 2. 1. Populasi.....	38
4. 2. 2. Teknik Pengambilan Sampel.....	38
4. 2. 3. Sampel.....	39
4. 3. Variabel dan Definisi Operasioanl.....	40
4. 3. 1. Variabel.....	40
4. 3. 2. Definisi Operasional.....	40
4. 4. Bahan atau Materi Penelitian.....	42
4. 4. 1. Bahan Pemberian.....	42
4. 4. 2. Bahan Pembuatan Asap Rokok.....	42
4. 4. 3. Bahan Pemeriksaan MDA.....	42
4. 4. 4. Bahan Pemeriksaan TNF- $\alpha$ .....	42
4. 5. Peralatan.....	42
4. 6. Cara Penelitian dan Alur Penelitian.....	43
4. 6. 1. Cara Persiapan Sebelum Perlakuan.....	43

4. 6. 2. Cara Pembuatan Jus Alpukat.....	44
4. 6. 3. Cara Pemberian Paparan Asap Rokok.....	45
4. 6. 4. Perlakuan Hewan Coba .....	45
4. 6. 5. Prosedur Pemeriksaan <i>Malondialdehyde</i> (MDA) .....	46
4. 6. 6. Prosedur Pemeriksaan TNF- $\alpha$ .....	47
4. 6. 7. Alur Penelitian.....	49
4. 7. Teknik Pengumpulan Data .....	49
4. 8. Tempat dan Waktu Penelitian .....	50
4. 9. Metode Analisis Data .....	50
<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5. 1. Hasil Penelitian .....	51
5. 2. Pembahasan.....	58
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
6. 1. Kesimpulan .....	65
6. 2. Saran.....	65
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>66</b>

## DAFTAR SINGKATAN

CNS	: <i>Central Nervous System</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: <i>Hydrogen Peroksida</i>
HCl	: <i>Hydrogen Chloride</i>
HOCl	: <i>Hypochlorous Acid</i>
LH	: <i>Luteinizing hormone</i>
LO-	: <i>Radical Alkoxy</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
NACHRS	: <i>Nicotinic Acetylcholine Receptors</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
NO-	: <i>Nitric Oxide</i>
O <sub>2</sub> -	: <i>Anion Superoxide</i>
OH	: <i>Hydroxyl Radical</i>
PAH	: <i>Polynuclear Aromatic Hydrocarbon</i>
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SD	: <i>Standar Deviasi</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TBA	: <i>Asam Thiobarbiturat</i>
TCA	: <i>Asam Trikloroasetat</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
VTA	: <i>Ventral Tegmental Area</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

**DAFTAR TABEL**

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 2.1. Komposisi kimiawi buah alpukat dalam 100 gram daging buah .....	20
Tabel 2.2. Konstituen Fitokimia Buah <i>Persea Americana</i> .....	20
Tabel 5.1. Hasil Pengukuran MDA dan TNF- $\alpha$ .....	52
Tabel 5.2. Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> .....	55
Tabel 5.3. Uji Homogenitas <i>Levene Test</i> .....	55
Tabel 5.4. Hasil Uji Beda <i>One Way Anova</i> .....	56
Tabel 5.5. Hasil Analisis Kadar MDA dengan Uji <i>Pos Hoc Tukey</i> .....	57
Tabel 5.6. Hasil Analisis Kadar TNF- $\alpha$ dengan Uji <i>Pos Hoc Tukey</i> .....	57



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Mekanisme Pembentukan MDA .....	8
Gambar 2.2. Transduksi Sinyal TNF- $\alpha$ .....	14
Gambar 2.3. Peran TNF- $\alpha$ Terhadap Proses Inflamasi .....	16
Gambar 2.4. Tanaman dan Buah Alpukat.....	19
Gambar 2.5. Komponen Asap Rokok .....	30
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	35
Gambar 3.2. Kerangka Konsep.....	36
Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian .....	37
Gambar 4.2. Alur Penelitian.....	49
Gambar 5.1. Grafik Nilai Rata-rata Kadar MDA pada masing-masing kelompok .....	53
Gambar 5.2. Grafik Nilai Rata-rata Kadar MDA pada masing-masing kelompok .....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Laporan Hasil Uji.....	74
2. Statistik Deskriptif, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, Uji <i>One Way ANOVA</i> , dan Uji <i>Pos Hoc Tukey</i> .....	76
3. Dokumentasi Penelitian .....	83
4. Ethical Clearance .....	86
5. Surat Keterangan Bebas Lab.....	87
6. Surat Keterangan Penelitian.....	88



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. 1. Latar Belakang

Rokok merupakan sumber radikal bebas eksogen yang mengganggu keseimbangan radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh, yang mengakibatkan stres oksidatif.<sup>1</sup> Selain mengandung radikal bebas, asap rokok juga diketahui mengandung berbagai senyawa toksik seperti senyawa nikotin, tar, karbon monoksida, karbon dioksida, PAH (*Polynuclear Aromatic Hydrocarbon*) dan hidrogen peroksida. Zat-zat tersebut akan mengakibatkan kerusakan dan gangguan fungsi sel serta mempengaruhi fungsi sistem organ.<sup>2</sup> Penggunaan produk tembakau di Indonesia masih cukup tinggi, terdapat 60,8 juta laki-laki dewasa dan 3,7 juta perempuan dewasa yang merupakan perokok. Menurut data Riskedas (2018), prevalensi merokok di kelompok usia 10-19 tahun mengalami peningkatan dari 7,2% pada tahun 2013 menjadi 9,1% pada tahun 2018.<sup>3</sup>

Kandungan berbahaya dari rokok dihisap ke dalam saluran pernafasan kemudian masuk ke dalam pulmo. Reaktivitas ROS akan merusak DNA, protein, dan lipid penyusun sel. Kondisi seperti ini kemudian dapat menyebabkan stres oksidatif. Merokok dapat meningkatkan peroksidasi lipid, menginduksi aktivitas enzim antioksidan sebagai mekanisme mempertahankan diri, dan menghasilkan gangguan keseimbangan yang dinamis antara oksidasi dan antioksidan.<sup>4</sup> Radikal bebas dapat menyebabkan meningkatkan peroksidasi lipid yang kemudian mengalami dekomposisi

menjadi *Malondialdehyde* (MDA) dalam darah. MDA merupakan penanda kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas.<sup>5</sup> Penelitian yang dilakukan Somwanshi *et.al.*, (2013) meningkatkan kadar MDA disebabkan akibat adanya paparan asap rokok.<sup>6</sup> Peningkatan ROS serta peroksidasi lipid meningkatkan kadar MDA sebagai *biomarker* stres oksidatif yang terdapat dalam serum darah perokok.<sup>7</sup>

Stress oksidatif mengakibatkan kerusakan jaringan yang memicu reaksi inflamasi di sel endotel pembuluh darah yang ditandai dengan dilepaskannya mediator-mediator inflamasi berupa sitokin-sitokin terutama TNF- $\alpha$ .<sup>8</sup> Respon inflamasi melalui regulasi NF-KB mengakibatkan terjadinya peningkatan jumlah leukosit terutama makrofag untuk mensintesis TNF- $\alpha$  dalam mempertahankan sistem imunitas.<sup>9</sup> Penelitian yang dilakukan Kusumastuty *et.al.*, (2015) bahwa rata-rata kadar TNF- $\alpha$  yang diukur dengan metode ELISA pada tikus yang terpapar asap rokok lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok yang tidak terpapar asap rokok yaitu 69,1 pg/ml pada kelompok yang dipapar asap rokok dan 36,4 pg/ml pada tikus yang tidak dipapar asap rokok.<sup>10</sup> Penelitian yang dilakukan Oktaviana (2018) paparan asap rokok terbukti menyebabkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$ .<sup>11</sup>

Nutrisi yang kaya dengan antioksidan merupakan faktor penting dalam memperbaiki kadar MDA sumber antioksidan makanan terdapat dalam sayuran dan buah.<sup>12</sup> Kandungan vitamin C dan E mempunyai peranan penting dalam melawan radikal bebas.<sup>13</sup> Perlawanan utama terhadap stres

oksidatif ini dapat dicapai dengan pemberian antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang melindungi jaringan dari kerusakan akibat oksidasi.

Antioksidan dibutuhkan untuk menghindari peningkatan kadar MDA akibat dari paparan asap rokok.<sup>14</sup> Buah alpukat mengandung senyawa antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari stress oksidatif.<sup>15</sup> Kandungan yang khas dari buah alpukat ini adalah sumber vitamin B kompleks, selain itu juga terkandung vitamin A, vitamin C, vitamin E, disamping lemak, protein, karbohidrat, mineral, tannin, dan senyawa-senyawa lain.<sup>16</sup> Flavonoid sebagai kandungan lain pada buah alpukat memiliki aktivitas kuat terhadap antioksidan.<sup>15</sup> Senyawa flavonoid yang tinggi dan dapat digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, anti-kanker dan anti-hipertensi.<sup>17</sup> Penelitian yang dilakukan Yuniastuti *et.al.*, (2015) pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) dapat menurunkan kadar MDA plasma.<sup>18</sup>

Berdasarkan latar belakang di atas, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus yang diberi paparan asap rokok.

## 1. 2. Perumusan Masalah

Apakah pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) berpengaruh terhadap kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok?

### 1. 3. Tujuan Penelitian

#### 1. 3. 1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok

#### 1. 3. 2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar MDA pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok
- b. Untuk mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok
- c. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok

#### 1. 4. Originalitas Penelitian

Originalitas penelitian menyajikan perbedaan dan persamaan bidang kajian yang diteliti antara peneliti dengan peneliti-peneliti sebelumnya. Hal ini dimaksudkan untuk untuk menghindari adanya pengulangan kajian terhadap hal-hal yang sama.

**Tabel 1.1. Originalitas Penelitian**

Peneliti	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Shireen A Al-tameemi, Najwa J Hameed, Karina B Gomes, Hussein A Abis 2022 <sup>19</sup>	Cigarette smoking increases plasma levels of IL-6 and TNF- $\alpha$	Penelitian ini menggunakan <i>cross-sectional study</i>	Hasilnya menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam IL-6 dan TNF- $\alpha$ plasma orang perokok bila dibandingkan dengan non-perokok.
Etha Rambung 2020 <sup>20</sup>	Electric Cigarettes's Effect to The MDA Levels In Blood of Wistar Rat	Eksperimental dengan rancangan penelitian <i>post test only control group design</i>	Rokok elektrik menyebabkan stres oksidatif sehingga kadar MDA kelompok perlakuan meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol
Yunita Surya Pratiwi, Sulistiana Prabowo 2018 <sup>21</sup>	Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Alpukat ( <i>Persea Americana</i> ) Terhadap Kadar <i>Malondialdehida</i> (MDA) Jaringan Hepar Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi	Eksperimental dengan rancangan penelitian <i>post test only control group design</i>	Bahwa parasetamol dosis tinggi meningkatkan secara bermakna kadar MDA jaringan hepar dan ekstrak kulit alpukat ( <i>Persea americana</i> ) menurunkan secara tidak bermakna kadar MDA jaringan hepar karena kulit alpukat mengandung flavonoid, hydroxycinnamic acids, keratinoid, vitamin C, dan vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya karena penelitian ini dilakukan dengan variable, jumlah sampel, dan lokasi

penelitian yang berbeda. Selain itu, penelitian ini akan menganalisis pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok.

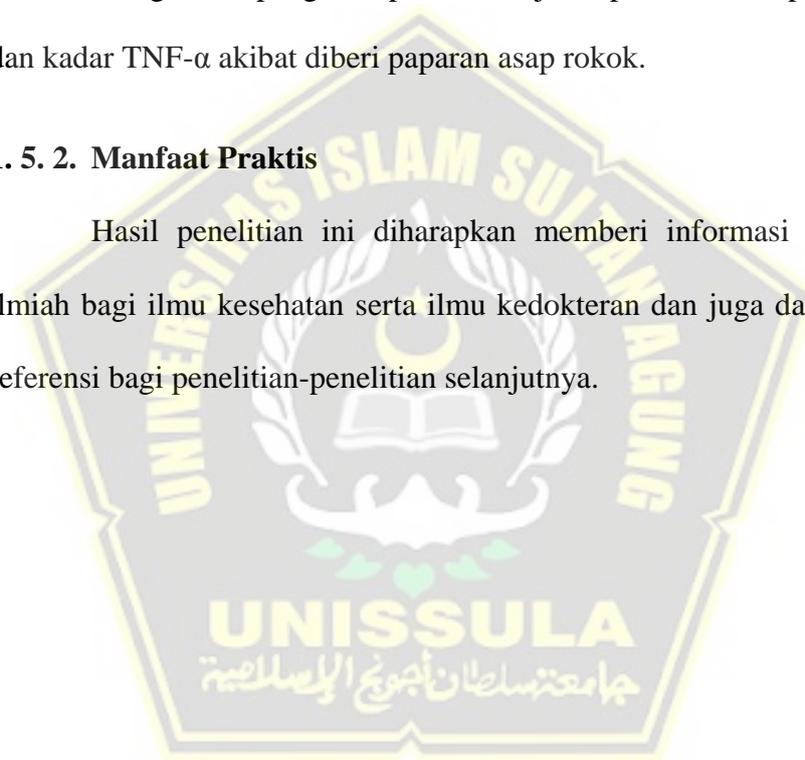
## **1. 5. Manfaat Penelitian**

### **1. 5. 1. Manfaat Teoritis**

Mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  akibat diberi paparan asap rokok.

### **1. 5. 2. Manfaat Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan memberi informasi dan manfaat ilmiah bagi ilmu kesehatan serta ilmu kedokteran dan juga dapat dijadikan referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2. 1. *Malondialdehyde* (MDA)

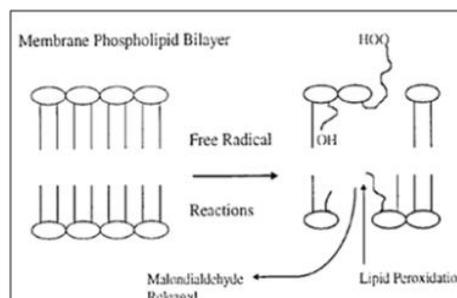
##### 2. 1. 1. Definisi *Malondialdehyde* (MDA)

*Malondialdehyde* (MDA) merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas.<sup>22</sup> MDA adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon dengan rumus molekul  $C_3H_4O^2$ . MDA juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentosa dan heksosa. Selain itu, MDA juga produk yang dihasilkan radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk samping biosintesis prostaglandin, yang merupakan produk akhir dari oksidasi lipid membran. Selain itu, MDA juga merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan radikal bebas. Oleh karena itu, konsentrasi MDA tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA.<sup>23</sup> Di antara *biomarker* (penanda) stres oksidatif yang paling sering digunakan sebagai parameter laboratorium adalah malondialdehyde. MDA dapat dijumpai di plasma, serum dan urin. Peroksidasi lipid dan kerusakan seluler merupakan indikasi terjadinya stres oksidatif.<sup>24</sup>

### 2. 1. 2. Mekanisme MDA

*Malondialdehyde* (MDA) dapat terbentuk apabila radikal bebas hidroksil seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak tersebut akan menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa toksik dan menyebabkan kerusakan pada membran sel.<sup>25</sup> Terjadi reaksi berantai yang menghasilkan sejumlah radikal lipid dan senyawa yang sangat sitotoksik terhadap endotel.<sup>23</sup>

Radikal-radikal lipid ini bereaksi dengan logam-logam transisi bebas dalam darah, seperti  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  menghasilkan aldehida toksik, salah satunya adalah MDA. Eliminasi MDA dari sirkulasi dengan bantuan enzim aldehyd dehydrogenase dan thiokinasi di hepar terjadi dalam waktu 2 jam pada tikus namun 10-30% melekat semi-permanen melekat pada protein dan dihilangkan dalam waktu 12 jam. Toksisitas MDA meningkat karena reaktivitasnya yang tinggi terutama terhadap protein dan DNA.<sup>23</sup>



Gambar 2. 1. Mekanisme Pembentukan MDA<sup>26</sup>

### 2. 1. 3. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kadar MDA

#### a. Nutrisi

Nutrisi atau makanan adalah salah satu hal yang dapat mempengaruhi kadar MDA. Nutrisi yang kaya dengan antioksidan merupakan faktor penting dalam memperbaiki kadar MDA. Sumber antioksidan makanan terdapat dalam sayuran dan buah.<sup>12</sup>

#### b. Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia dalam jangka panjang akan mengakibatkan terjadinya *reactive oxygen species* (ROS) dan akan muncul radikal – radikal bebas yang dapat meningkatkan stress oksidatif. Produksi ROS yang meningkat dapat mendegradasi lemak tak jenuh ganda membentuk MDA dan mengakibatkan komplikasi.<sup>27</sup>

#### c. Latihan Fisik

Latihan fisik juga mempengaruhi kadar *malondialdehyde*. Terdapat dua penelitian terkait pengaruh latihan fisik terhadap kadar *malondialdehyde*. Latihan fisik yang sesuai prosedur FITT akan mengakibatkan kadar perbaikan kadar *malondialdehyde*.<sup>12</sup> Tetapi apabila tidak sesuai dengan prosedur FITT (aktivitas fisik maksimal) justru akan mengakibatkan kenaikan kadar *malondialdehyde*.<sup>28</sup>

#### **d. Paparan Asap Rokok**

Pada perokok terjadi ketidakseimbangan radikal bebas yang masuk dengan antioksidan yang dihasilkan sehingga pemberian asupan antioksidan dari luar tubuh dibutuhkan. Dalam menurunkan kadar radikal bebas dapat dilakukan dengan cara menentukan kadar *malondialdehyde* (MDA) di dalam darah.<sup>29</sup>

##### **2. 1. 4. Pengukuran MDA**

Pengukuran kadar MDA menggunakan metode TBARS (*Thiobarbiturat Acid Reative Substance*). Proses peroksidasi lipid yang diperantarai oleh radikal bebas menghasilkan senyawa MDA.<sup>30</sup> Prinsip kerja dari pengukuran MDA adalah reaksi MDA molekul tunggal dengan dua molekul asam thiobarbiturat (TBA) membentuk warna merah muda diukur pada spektrofotometer panjang gelombang 532 nm.<sup>31</sup>

#### **2. 2. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ )**

##### **2. 2. 1. Definisi TNF- $\alpha$**

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) merupakan salah satu sitokin yang mendukung terjadinya proses inflamasi. Sitokin didalam tubuh merupakan protein yang berfungsi sebagai pengatur pemberi informasi antara sel dengan cara menggerakkan reaktivitas imunitas

spesifik dan non spesifik. TNF- $\alpha$  merupakan sitokin yang dihasilkan oleh aktivasi makrofag dan monosit, selain itu TNF- $\alpha$  juga dihasilkan oleh aktivasi dari beberapa sel lainnya seperti sel T, sel mast, sel B dan fibroblast.<sup>32</sup>

### 2. 2. 2. Aktivitas Biologis TNF- $\alpha$

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) memiliki peran sebagai *growth factor* pada sel B dan proses pematangan pada sel dendritik, sedangkan pada sel T, TNF- $\alpha$  berperan sebagai stimulus terjadinya apoptosis. TNF- $\alpha$  mengatur TCR (*T cell receptore*) negatif dalam melawan autoreaktif oleh sel T dan melakukan induksi apoptosis pada sel T dalam darah perifer. TNF- $\alpha$  juga mampu merangsang anti apoptosis molekul serta melakukan aktivasi NF-Kb dalam melawan mediasi apoptosis. TNF- $\alpha$  melakukan aktivasi terjadinya peradangan sekunder yang ditandai dengan nekrosis dan kerusakan jaringan sehingga dapat mempengaruhi imunitas.<sup>33</sup>

Makrofag merangsang sitokin TNF- $\alpha$  karena rangsangan dari IFN- $\gamma$  yang diaktifkan oleh sel T (CD4+ dan CD8+) dan NK. TNF- $\alpha$  memiliki peran sebagai aktivasi inflamasi akut pada mikroba dan bakteri gram negatif. Kadar TNF- $\alpha$  memiliki tingkatan dan peran berbeda dalam klasifikasi inflamasi. Kadar TNF- $\alpha$  yang kecil bekerja untuk mengaktivasi sel endotel dan leukosit pada sel leukosit dan berfungsi sebagai stimulasi terjadinya inflamasi akut atau lokal. Kadar TNF- $\alpha$  yang sedang menimbulkan demam pada otak, APP

(*acute phase protein*) pada hati dan mempengaruhi leukosit pada sumsum tulang belakang akibat inflamasi sistemik. Pada kadar TNF- $\alpha$  yang tinggi dapat memberikan efek pada kelainan patologi syok seperti pada hati yang dapat menyebabkan hipoglikemia, pada pembuluh darah menyebabkan trombus, retensi darah dan dapat menyebabkan apoptosis akibat rangsangan dari inflamasi.<sup>34</sup>

### 2. 2. 3. Mekanisme TNF- $\alpha$

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) pertama kali ditemukan pada tahun 1975, dapat menyebabkan nekrosis hemoragik tumor. Dengan demikian, TNF- $\alpha$  dianggap sebagai salah satu sitokin anti kanker yang paling menjanjikan. Sejak saat itu, dua mekanisme utama untuk aksi anti kanker yang telah diajukan. Ditemukan jaringan dasar TNF- $\alpha$  pada kerusakan pembuluh darah yang ada pada tumor, sehingga menyebabkan nekrosis tidak langsung ke sel tumor. Selain itu, TNF- $\alpha$  tampaknya sangat berkaitan dengan kemoterapi dan liposom yang dimana dapat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, akumulasi obat di lokasi tumor ditemukan bahwa TNF- $\alpha$  dapat bekerja secara langsung pada sel-sel ganas dengan menginduksi apoptosis tetapi efek sitotoksik dapat muncul hanya dengan adanya inhibitor metabolik lainnya. Berdasarkan temuan ini, beberapa uji klinis telah dilakukan untuk menguji potensi terapeutik TNF- $\alpha$  dalam berbagai

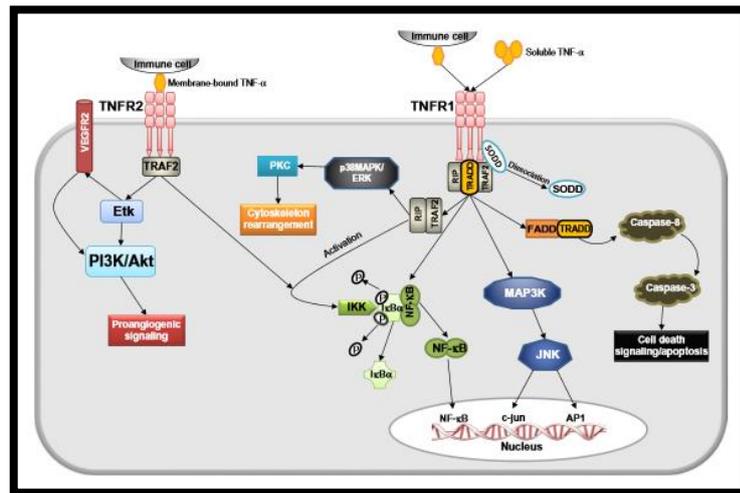
jenis kanker, tetapi kebanyakan dari mereka gagal membuktikannya.<sup>35</sup>

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) adalah anggota dari superfamily, TNF- $\alpha$  terdiri dari 19 sitokin yang mengatur sejumlah aktivitas biologis seperti inflamasi, apoptosis, produksi kemokin dan metabolisme. *Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) adalah polipeptida 17-kDa yang dihasilkan dari pembelahan proteolitik dari prekursor terintegrasi membran 26-kDa dan *Transmembrane Tumor Necrosis Factor* (tmTNF) dari TNF- $\alpha$  yang mengubah *Enzim Trans Arterial Chemoembolisation* (TACE). Zat ini disekresikan oleh sel imun dan non-imun yang di produksi oleh makrofag, limfosit, sel endotel, fibroblas, neuron, adiposa dan jaringan otot, serta mengikuti rangsangan mikroba dan endogen. Baik *Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor* (sTNF) dan *Transmembrane Tumor Necrosis Factor* (tmTNF) aktif secara biologis dan berinteraksi dengan dua sub tipe reseptor glikoproteinik trimerik: reseptor TNF 1 (TNFR1, p55, CD120a) dan Reseptor TNF 2 (TNFR2, p75, CD120b). Sementara TNFR1 adalah reseptor yang diekspresikan di semua sel yang berinti dan mengikat sTNF, TNFR2 adalah sub tipe yang dapat diinduksi, biasanya diekspresikan oleh sel sistem kekebalan, aktivitas biologis dan tmTNF. Sel mengekspres *Transmembrane Tumor Necrosis Factor* (tmTNF) saling mentransduksi pensinyalan intraseluler melalui interaksi

langsung dengan sel-sel yang membawa TNFR. Melalui aktivasi jalur NF- $\kappa$ B1, TNF- $\alpha$  mempunyai produksi sitokin terhadap inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 dan molekul adhesi (misalnya molekul adhesi antar sel). Oleh karena itu, TNF- $\alpha$  berimplikasi pada pertahanan tubuh terhadap agen infeksi, tetapi juga merupakan faktor kunci dalam promosi dan pemeliharaan inflamasi pada penyakit inflamasi kronis.<sup>36</sup>

#### 2. 2. 4. Transduksi Sinyal TNF- $\alpha$

Transduksi sinyalnya mempengaruhi ikatan dengan reseptor permukaan seperti TNF- $\alpha$  reseptor 1 (TNFR1 atau p55TNFR) dan TNF- $\alpha$  reseptor 2 (TNFR2 atau p75TNFR). Reseptor p55TNFR terlibat dalam proses sitotoksik dan apoptosis sedangkan reseptor p75TNFR terlibat dalam survival dan proliferasi sel. Ikatan TNF- $\alpha$  dengan p55TNFR akan menginduksi trimerisasi dan pemanggilan protein adaptor TNF *Resceptor Associated Death Domain* (TRADD) untuk ikut memanggil pula *Receptor Interacting Protein* (RIP), TRAF2, dan FADD. Kesemuanya itu akan memediasi aktifnya caspase 8 dan 10 yang menginisiasi apoptosis. Reseptor p55TNFR juga mengaktifkan jalur transduksi sinyal seperti NF- $\kappa$ B, ERK, JNK.<sup>37</sup>



Gambar 2. 2. Transduksi sinyal TNF- $\alpha$ <sup>37</sup>

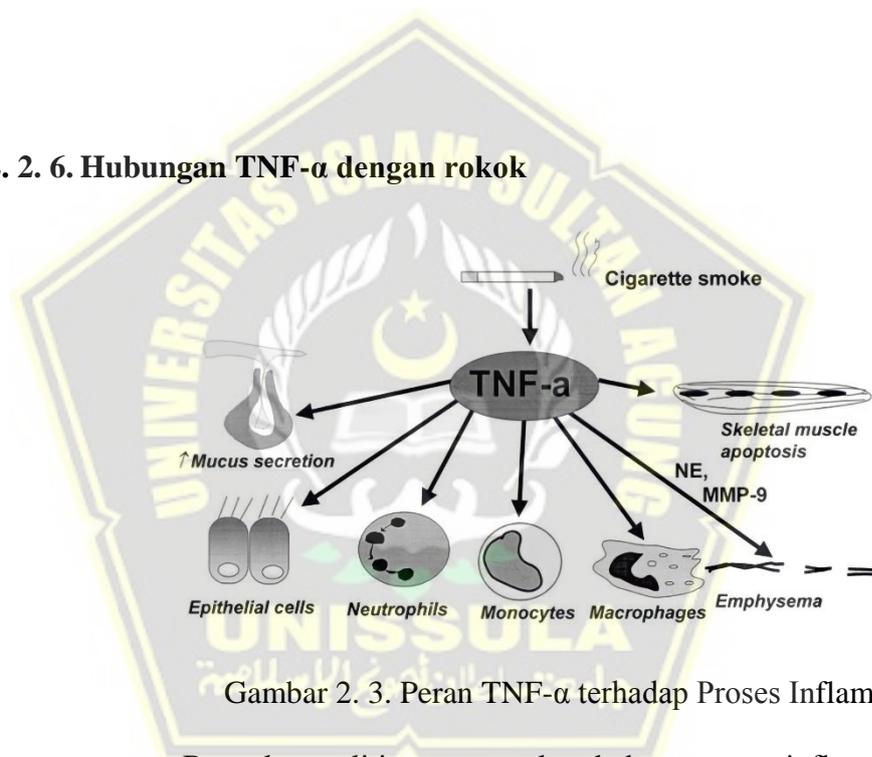
### 2. 2. 5. Fungsi TNF- $\alpha$

*Tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel neutrofil dan makrofag. Tumor nekrosis faktor-alfa juga memiliki fungsi tambahan yang menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasit.<sup>38</sup>

Hampir semua proses inflamasi mengakibatkan aktivasi makrofag jaringan dan infiltrasi monosit darah. Aktivasi ini menyebabkan banyak perubahan dalam sel, di antaranya ialah

produksi TNF, IL-1, dan IL-6 yaitu sitokin-sitokin yang menyebabkan efek multipel pada hospes. Efek-efek ini meliputi yaitu induksi demam, respon fase akut hepatic yang disertai leukositosis, produksi protein fase akut seperti C-Reactive Protein, dan diferensiasi atau aktivasi dari sel T, sel B dan makrofag.<sup>38</sup>

#### 2. 2. 6. Hubungan TNF- $\alpha$ dengan rokok



Gambar 2. 3. Peran TNF- $\alpha$  terhadap Proses Inflamasi<sup>39</sup>

Banyak penelitian menemukan bahwa respon inflamasi paru terhadap pajanan gas atau asap rokok ditandai dengan peningkatan jumlah neutrofil, makrofag dan limfosit T yang didominasi oleh CD8+, peningkatan konsentrasi sitokin proinflamasi seperti leukotrien B4, IL-8, TNF- $\alpha$  dan bukti bahwa stress oksidatif disebabkan oleh inhalasi asap rokok atau yang diaktifkan oleh sel

inflamasi. Peningkatan jumlah limfosit T yang didominasi oleh CD8+ tidak hanya ditemukan pada jaringan paru tetapi juga pada kelenjar limfe paratrakeal.<sup>40</sup>

Makrofag yang diaktifkan asap rokok dan zat iritan lainnya akan melepaskan netrofil, IL8 dan TNF- $\alpha$  yang kembali menstimulasi makrofag dan netrofil mengeluarkan zat-zat protease seperti netrofil elastase, capthesin dan *Matriks Metalo Protease* (MMP) yang merusak dinding alveoli, jaringan penunjang pada parenkim paru dan juga menstimuli terjadinya hipersekresi mukus. Asap rokok ini juga mengaktifkan sel epitel di saluran pernapasan untuk mengaktifkan T limfosit khususnya CD8 yang dapat langsung membuat kerusakan pada dinding alveoli dan juga dengan mengeluarkan berbagai macam mediator inflamasi, salah satunya TNF- $\alpha$ . Sel epitel yang terpajan asap rokok akan menyebabkan pembentukan fibroblas meningkat sehingga menyebabkan terjadinya fibrosis. Fibroblas akan diaktifasi oleh Growth Factor yang dilepaskan oleh makrofag dan sel epitel. Enzim-enzim ini pada kondisi normal akan diatasi oleh protease inhibitor, termasuk alpha 1 antitripsin, SLPI dan *Tissue Inhibitor Metalo Protease* (TIMP). Mekanisme obstruksi saluran napas adalah obstruksi oleh sekret pada saluran napas akibat produksi sekret yang berlebihan disertai penebalan kelenjar-kelenjar, submukosa, secara potensial merupakan komponen obstruksi

saluran napas yang reversibel. Reaksi oksidasi stress dari asap rokok atau dari sel inflamasi memiliki beberapa efek antara lain : menurunkan aktivitas dari antiprotease, mengaktivasi Nuklear factor kB, meningkatkan sekresi sitokin IL8, meningkatkan produksi TNF- $\alpha$ , meningkatkan isoprotanase yang berperan dalam bronkokonstriksi dan kebocoran plasma dan efek langsung terhadap saluran napas atau bronkokonstriksi.<sup>41</sup>

### 2. 3. Alpukat (*Persea americana* M.)

Tanaman alpukat (*Persea americana* M.) berasal dari Amerika Tengah yang beriklim tropis dan telah menyebar hampir ke seluruh negara sub-tropis dan tropis termasuk Indonesia. Hampir semua orang mengenal dan menyukai buah alpukat, buah alpukat mempunyai kandungan gizi yang tinggi. Di samping daging buahnya, biji alpukat juga memiliki potensi karena proteinnya tinggi.<sup>42</sup>

Tanaman alpukat berupa pohon dengan ketinggian 3-10 m, rating tegak dan berambut halus, daun berdesakan diujung ranting, bentuk bulat telur atau corong, awalnya berbulu pada kedua belah permukaannya dan lama-kelamaan menjadi licin. Bunga alpukat berupa malai dan terletak di dekat ujung ranting, bunganya sangat banyak berdiameter 1-1,5 cm, berwarna kekuningan, berbulu halus dan benang sari dalam 4 karangan, buah alpukat berbentuk bola lampu sampai bulat telur, berwarna hijau

kekuningan berbintik ungu, gandel/halus, dan harum, biji berbentuk bola dan hanya terdapat satu biji dalam 1 buah.<sup>43</sup>

### 2. 3. 1. Taksonomi Buah Alpukat

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tumbuhan, buah alpukat termasuk ke dalam klasifikasi sebagai berikut :

- Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)  
Subkingdom : *Tracheobionta* (Tumbuhan berpembuluh)  
Super Divisi : *Spermatophyta* (Menghasilkan biji)  
Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : *Magnoliopsida* (Berkeping dua/dikotil)  
Sub kelas : *Magnoliidae*  
Ordo : *Laurales*  
Famili : *Lauraceae*  
Genus : *Persea*  
Spesies : *Persea americana* Mill.<sup>44</sup>



Gambar 2.4. Tanaman dan Buah Alpukat<sup>45</sup>**2. 3. 2. Kandungan Alpukat**

Pada buah alpukat, mengandung banyak senyawa-senyawa yang penting bagi tubuh manusia diantaranya yaitu:

Tabel 2.1. Komposisi kimiawi buah alpukat dalam 100 gram daging buah

<b>Komponen</b>	<b>Kadar</b>
Energi buah (kal)	85 – 233
Air (%)	67,49 – 84,30
Protein (%)	0,27 – 1,7
Lemak (gram)	6,5 – 25,18
Karbohidrat (gram)	5,56 – 8
Abu (gram)	0,70 – 1,4
Vitamin (mg):	
A	0,13 – 0,51
B <sub>1</sub>	0,025 – 0,12
B <sub>2</sub>	0,13 – 0,23
B <sub>3</sub>	0,79 – 2,16
B <sub>6</sub>	0,45
C	2,3 – 7
D	0,01
E	3
K	0,008
Mineral (mg) :	
Ca	10
Fe	0,9
P	20

Sumber : Kalie<sup>45</sup>

Tabel 2.2. Konstituen fitokimia buah *Persea americana*

<b>Komposisi</b>	<b>Buah (mg/100g)</b>
Saponin	0.14±0.01

Tannin	0.12±0.03
Flavonoid	4.25±0.16
Alkaloid	0.14±0.00
Fenol	2.94±0.13
Steroids	1.88±0.19

*Sumber : Arukwe*<sup>17</sup>

Padahal bila melihat dari kandungan gizinya yang mengandung vitamin, seperti vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan vitamin E. Kandungan lain yang terdapat dalam buah alpukat adalah lemak, karbohidrat, asam folat, dan protein.<sup>46</sup>

Asam askorbat atau vitamin C merupakan antioksidan larut air yang mampu memindahkan senyawa elektron, selain itu juga mampu menghilangkan oksigen reaktif dan mencegah LDL teroksidasi. Antioksidan tersebut mampu bereaksi dengan radikal bebas.<sup>23</sup>

Flavonoid sebagai kandungan lain pada buah alpukat memiliki aktivitas kuat terhadap antioksidan sehingga mampu melindungi dari zat toksik ataupun stress oksidatif di suatu organ dan mencegah adanya kerusakan sel.<sup>15</sup> Senyawa flavonoid yang tinggi dan dapat digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, anti-kanker dan anti-hipertensi.<sup>17</sup>

### 2. 3. 3. Manfaat Alpukat

Dengan kandungan nutrisi yang banyak tersebut maka alpukat dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan, diantaranya:

1. Lemak monosaturated (tak jenuh) yang terdapat di dalam alpukat mengandung *oleic acid* yang terbukti mampu meningkatkan kadar lemak sehat dalam tubuh, dan mengontrol diabetes. Dengan menggunakan alpukat sebagai sumber lemak, penderita diabetes dapat menurunkan kadar *triglycerides* sampai 20%.
2. Lemak tak jenuh ini juga sangat baik untuk mengurangi kadar kolesterol. Diet rendah lemak yang menyertakan alpukat telah terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol jahat, dan meningkatkan kadar kolesterol baik dalam darah.
3. Alpukat juga banyak mengandung serat yang sangat bermanfaat untuk mencegah tekanan darah tinggi, penyakit jantung, dan beberapa jenis kanker.
4. Alpukat juga mengandung potassium 30% lebih banyak di banding nanas.<sup>45</sup>

#### **2.3.4. Buah Alpukat sebagai Antioksidan**

Senyawa oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species* = ROS) adalah senyawa radikal yang dapat menyerang berbagai substrat dalam tubuh termasuk lipid, asam nukleat dan protein. Ketika paparan radikal bebas dalam tubuh berlebihan maka tubuh dapat mengalami gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun dan bahkan mutasi. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu

munculnya berbagai penyakit, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker.<sup>23</sup> Keadaan di atas menyebabkan tubuh memerlukan suatu asupan yang mengandung suatu senyawa yaitu antioksidan yang mampu menangkap dan menetralkan radikal bebas tersebut sehingga reaksi-reaksi lanjutan yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif dapat berhenti dan kerusakan sel dapat dihindari atau induksi suatu penyakit dapat dihentikan. Reaksi terminasi antioksidan biasanya terjadi dengan cara menangkap radikal hidroksil (\*OH) pada tahap reaksi peroksidasi lemak, protein atau molekul lainnya pada membran sel normal sehingga kerusakan sel dapat dihindari. Antioksidan dalam makanan atau minuman dapat berupa antioksidan alami seperti yang terkandung dalam sayur-sayuran, buah-buahan dan minuman maupun antioksidan sintetis yang sengaja ditambahkan (zat aditif) pada makanan dan minuman yang dikonsumsi.<sup>47</sup>

Buah alpukat (*Persea americana* M.) merupakan buah tropis yang penting dan merupakan sumber fitokimia lipofilik yang baik seperti asam lemak tunggal tak jenuh, karotenoid, vitamin E dan sterol. Buah alpukat mengandung molekul bioaktif yang melindungi sel-sel tubuh manusia terhadap radikal bebas. Analisis fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, fenolat dan flavonoid pada buah alpukat.<sup>26</sup>

## **2. 4. Asap Rokok**

### **2. 4. 1. Definisi Asap Rokok**

Asap rokok mengandung lebih dari 4000 jenis zat organik berupa gas maupun partikel yang berasal dari daun tembakau. Komponen dalam asap rokok dibagi menjadi 2 bentuk yaitu fase gas dan fase tar (fase partikulat). Fase gas merupakan fase dengan berbagai macam gas yang berbahaya diantaranya terdiri dari nitrosopirolidin, vinil klorida, formaldehid, hydrogen sianida, nitrosamine, akrolein, urean, asetaldehida, ammonia piridin, hidrasin, nitrogen oksida, dan karbon monoksida. Sedangkan fase tar merupakan bahan yang terserap dari penyaringan asap rokok menggunakan filter cartridge dengan ukuran pori-pori 0,1 $\mu$ m. Fase ini terdiri dari dibensakridin, dibensokarbol, bensopirin, fluoranten, hidrokarbon aromatik, polinuklear, naftalen, nitrosamine yang tidak menguap, nikel, arsen, alkaloid tembakau, nikotin, dan alkaloid tembakau.<sup>48</sup> Radikal bebas dari asap fase tar memiliki waktu paruh yang lebih lama (beberapa jam hingga bulan) dibandingkan dengan fase gas yang hanya memiliki waktu paruh beberapa detik.<sup>49</sup>

### **2. 4. 2. Bahan yang terkandung dalam Asap Rokok**

#### **1. Nikotin**

Organik spesifik yang terkandung dalam daun tembakau.

Senyawa ini dapat menimbulkan efek psikologis berupa

ketagihan bagi perokok. Nikotin ini berpengaruh pada beratnya rasa isap dalam rokok. Semakin tinggi kadar nikotin maka semakin berat rasa isapnya sedangkan asap rokok yang memiliki kadar nikotin rendah memiliki rasa yang enteng (hambar).<sup>48</sup>

Mekanisme adiksi nikotin terjadi karena adanya interaksi antara nikotin dengan *Nicotinic Acetylcholine Receptors* (*nAChRs*) pada otak di daerah mesolimbik dopamin system di *Ventral Tegmental Area* (*VTA*) neuron yang mengawali aktivasi *Central Nervus System* (*CNS*) termasuk *system Mesoaccumbens Dopamin*. Reseptor nikotin ini mengatur pelepasan dopamin. Nikotin mengubah aktivitas *VTA* untuk meningkatkan sekresi dopamin.<sup>50,51</sup> Dopamin yang dilepaskan berperan dalam pengontrolan fungsi aktivitas lokomotorik kognisi, emosi, rensiformen positif, serta regulasi endokrin. Akibat dari pelepasan dopamin ini pun akan menimbulkan perasaan nyaman bagi perokok.<sup>52</sup>

Penggunaan nikotin secara akut maupun kronik dapat menimbulkan toleransi. Toleransi akut terjadi akibat desensitasi reseptor, yaitu saat nikotin berikatan dengan reseptor nikotin akan terjadi perubahan alosterik dan reseptor nikotin menjadi tidak sensitif terhadap nikotin beberapa waktu. Penggunaan kronik akan meningkatkan jumlah reseptor nikotinik 50%

yang mungkin merupakan akibat dari desensitasi reseptor.<sup>53</sup> Dalam keadaan tersebut jika nikotin tidak tersedia, maka pelepasan dopamin dan neurotransmitter lainnya akan menurun dibawah normal sehingga menimbulkan efek putus obat. Gejala yang timbul akibat putus obat tersebut antara lain rasa cemas, sulit berkonsentrasi, sulit istirahat, gangguan depresi, dan depresi.<sup>54</sup>

## 2. Tar

Tar adalah kondensat asap yang merupakan total residu dihasilkan saat rokok dibakar setelah dikurangi nikotin dan air yang bersifat karsinogenik.<sup>55</sup> Saat rokok dihisap, tar masuk rongga mulut sebagai uap padat asap rokok, setelah dingin akan menjadi padat dan membentuk endapan berwarna coklat pada permukaan gigi, saluran nafas, dan paru – paru.<sup>56</sup>

Pada rokok yang menggunakan filter dapat mengalami penurunan kandungan tar sekitar 5-15 mg. Walaupun rokok diberi filter, efek karsinogenik tetap bisa masuk dalam paru-paru, ketika pada saat merokok hirupannya dalam-dalam, menghisap berkali-kali dan jumlah rokok yang digunakan bertambah banyak.<sup>57</sup>

## 3. Karbon Monoksida

Karbon monoksida merupakan senyawa berupa gas, tidak berwarna, tidak berbau, mudah terbakar, dan dipakai dalam pembuatan berbagai senyawa organik dan anorganik. Gas karbon monoksida yang terdapat dalam rokok tidak akan menyebabkan keracunan pada perokok namun efek buruknya akan terjadi secara lamban pada jalan nafas.<sup>57</sup>

Gas CO mempunyai kemampuan mengikat hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit, lebih kuat dibandingkan oksigen, sehingga setiap ada asap tembakau, disamping kadar oksigen udara yang sudah berkurang, ditambah lagi eritrosit akan semakin kekurangan oksigen karena yang diangkut adalah CO.<sup>56</sup> Dalam rokok terdapat CO sejumlah 2%-6% pada saat merokok, sedangkan CO yang dihisap oleh perokok paling rendah sejumlah 400 ppm sudah dapat meningkatkan kadar karboksihemoglobin dalam darah sejumlah 2-16%.<sup>57</sup>

#### **2. 4. 3. Asap Rokok Sebagai Radikal Bebas**

Asap rokok merupakan hasil pembakaran tembakau dalam bentuk aerosol yang mengandung sekitar  $10^{10}$  partikel / mL, terdiri dari polimer karbon yang mudah menyerap dengan logam berat teradsorpsi, *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAH), N-nitrosamin dan bahan kimia lainnya. Partikulat (tar) terdiri dari partikel halus dan sangat halus (0,1-1,0  $\mu\text{m}$ , diameter aerodinamis) yang menembus jauh ke dalam alveoli. Beberapa komponen larut

air dari tar, ACT dapat menghasilkan anion superoksida ( $O_2^-$ ) dan selanjutnya  $H_2O_2$  dan radikal hidroksil reaktif ( $HO\cdot$ ), yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada lipida membran seluler, protein, enzim dan DNA.<sup>58</sup>

Secara fisiologis, tubuh melakukan metabolisme untuk menghasilkan energi melalui respirasi yang terjadi dalam tiap sel sel tubuh dan menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas ini mempunyai tenaga yang besar untuk membunuh virus dan bakteri.<sup>59</sup> Radikal bebas dapat merusak jaringan normal terutama dalam jumlah banyak. Akibat yang dapat ditimbulkan dari aktivitas radikal bebas berupa gangguan produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, pembuluh darah, prostaglandin, kerusakan sel serta mengurangi kemampuan sel untuk beradaptasi dengan lingkungannya.<sup>60</sup> Salah satu marker radikal bebas dalam tubuh adalah *malondialdehid* (MDA). *Malondialdehid* (MDA) terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel, yaitu reaksi antara radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *poly unsaturated fatty acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai yang menghasilkan hasil akhir berupa hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel. MDA merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk.<sup>29</sup>

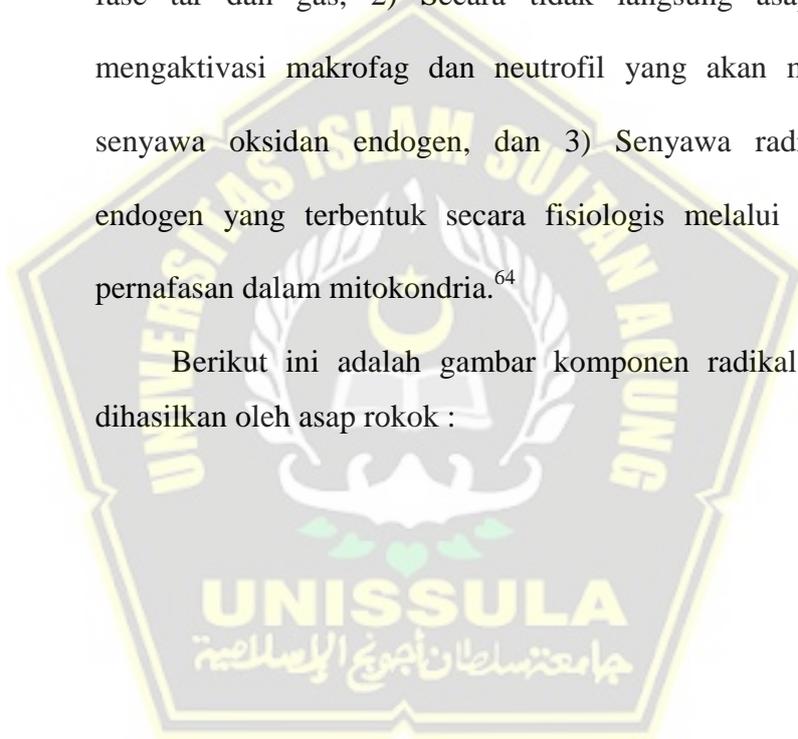
Tipe radikal bebas yang terpenting dalam tubuh yaitu derivat dari Oksigen, yaitu *Reactive Oxygen Stress (ROS)*, diantaranya adalah *anion superoksida ( $O_2^-$ )*, *radikal hidroksil ( $-OH$ )*, *nitrit oksida ( $NO^-$ )*, *triplet ( $3O_2$ )*, *asam hipoklorus ( $HOCl$ )*, *hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ )* radikal alkoxy ( $LO^-$ ).<sup>61</sup>

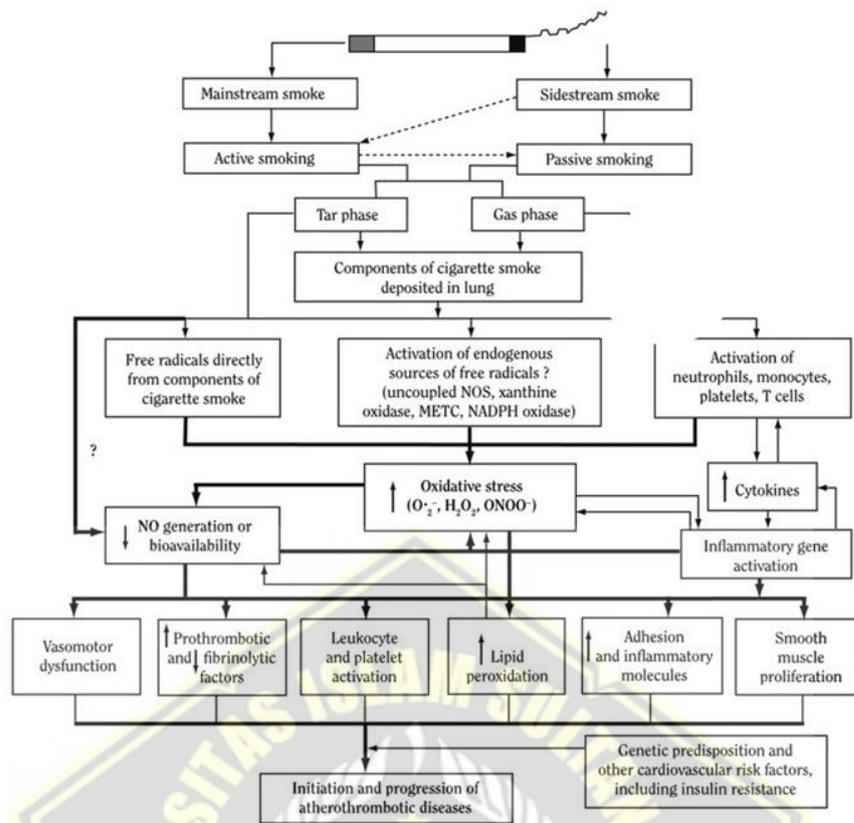
Selain dari dalam tubuh, radikal bebas pun dapat berasal dari luar tubuh seperti obat-obatan, radiasi, dan asap rokok. Secara normal tubuh mempunyai suatu antioksidan untuk menjinakkan radikal bebas dalam tubuh yaitu *Superoksida Dismutase (SOD)*, *enzim katalase*, dan *Glutathione Sulphydril (GSH)*. Namun jika jumlah oksidan berlebihan maka antioksidan yang tersedia belum cukup mengatasinya. Oleh karena itu diperlukan antioksidan yang berasal dari luar tubuh seperti flavonoid, vitamin A, vitamin C, vitamin E, selenium, seng, dan L-sistein untuk mengatasi kelebihan jumlah oksidan dalam tubuh.<sup>62</sup> Berdasarkan fungsinya antioksidan sendiri dibagi menjadi 5 macam yaitu : 1) antioksidan primer yang berguna untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru, contohnya SOD dan enzim katalase, 2) antioksidan sekunder berguna untuk menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai, contohnya vitamin C, vitamin E, dan beta karoten, 3) antioksidan tersier berguna untuk memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak akibat radikal bebas contohnya enzim metionin sulfosida reductase, 4) oxygen scavenger berguna untuk mengikat

oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, contohnya vitamin C, 5) chelators yang berguna untuk mengkatalisis reaksi oksidasi, contohnya asam sitrat dan asam amino.<sup>63</sup>

Asap rokok memiliki kandungan oksidan eksogen yang tinggi untuk tubuh. Mekanisme peningkatan senyawa oksidan pada tubuh yang disebabkan oleh asap rokok diantaranya : 1) melalui paparan oksidan secara langsung yang terdapat pada asap rokok fase tar dan gas, 2) Secara tidak langsung asap rokok ini mengaktifasi makrofag dan neutrofil yang akan mengeluarkan senyawa oksidan endogen, dan 3) Senyawa radikal oksigen endogen yang terbentuk secara fisiologis melalui reaksi rantai pernafasan dalam mitokondria.<sup>64</sup>

Berikut ini adalah gambar komponen radikal bebas yang dihasilkan oleh asap rokok :





Gambar 2.5. Komponen Asap Rokok<sup>65</sup>

## 2.5. Pengaruh Pemberian Jus Alpukat terhadap Kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$ pada Paparan Asap Rokok

Kadar radikal bebas bisa menimbulkan terbentuknya kondisi stress oksidatif dan merangsang terbentuknya peroksidasi lipid pada membran sel yang akan menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA). MDA dijadikan sebagai *biomarker* kadar radikal bebas di dalam tubuh. Dampak negatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas yaitu dapat dinetralkan oleh antioksidan di dalam tubuh.<sup>66</sup>

Asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas eksogen yang dapat menyerang DNA, protein dan lipid serta dapat memicu respon peradangan pada saluran udara perifer dan parenkim paru.<sup>1,67</sup> Pemberian

asap rokok pada kelompok kontrol negatif bekerja dengan cara menyebabkan pergerakan makrofag, neutrofil dan limfosit T ke dalam saluran pernapasan dan memicu aktivasi dari berbagai mediator inflamasi dan faktor kemotaktik, yaitu TNF- $\alpha$ , IL-6, IL8, MCP-1, leukotriene LTB<sub>4</sub>, ROS dan sekresi enzim proteolitik seperti MMP-9 dan MMP-12.<sup>68,67</sup> TNF- $\alpha$  disekresikan oleh makrofag yang diaktivasi oleh asap rokok melalui jalur classic MAPK yang memediasi pembentukan protease dan sitokin inflamasi sehingga pemaparan asap rokok dapat menyebabkan peningkatan TNF- $\alpha$  dan menginisiasi respon inflamasi.<sup>10</sup>

Asap rokok bisa mengakibatkan *Spesies Oksigen Reaktif* (ROS). ROS merupakan oksidan yg sangat reaktif. Dampak negatif senyawa tadi timbul lantaran aktivitasnya, sebagai akibatnya bisa merusak komponen sel yang sangat penting buat mempertahankan integritas sel. ROS yang terbentuk bisa memulai suatu reaksi berantai yang akan terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh sistem antioksidan.<sup>69</sup> Keadaan ROS yang terlalu berlebih bisa mengakibatkan keadaan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan tubuh. Pada saat kondisi stres oksidatif, menyebabkan membran sperma mengalami peroksidasi lipid, kerusakan DNA dan apoptosis.<sup>70</sup>

Pada saat jumlah radikal bebas mengalami peningkatan akibat stress, radiasi, asap rokok, dan polusi lingkungan mengakibatkan sistem pertahanan tubuh tidak cukup buat menangani kelebihan radikal bebas tersebut sehingga membutuhkan tambahan antioksidan dari luar untuk

melindungi tubuh akibat dari serangan radikal bebas.<sup>71</sup> Antioksidan pada makanan atau minuman bisa berupa antioksidan alami misalnya yang terkandung pada sayur-sayuran, buah-buahan dan minuman.<sup>47</sup>

Buah alpukat (*Persea americana* M.) mengandung molekul bioaktif yang melindungi sel-sel tubuh manusia terhadap radikal bebas. Analisis fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, fenolat dan flavonoid pada buah alpukat.<sup>72</sup> Selain itu alpukat juga mengandung senyawa lain yang bermanfaat bagi tubuh seperti karotenoid, *Monounsaturated Fatty Acid* (MUFA), mineral, protein, vitamin A, Vitamin B (B1, B2, B3, B5, B6, dan B12), Vitamin C, Vitamin E dan Vitamin K1.<sup>73</sup> Kandungan flavonoid pada alpukat memiliki aktivitas antioksidan total yang tinggi. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang bisa berperan menjadi antioksidan yang menaruh proteksi terhadap oksidasi dan kerusakan radikal bebas, dan mempunyai aktivitas antiinflamasi. Mekanisme flavonoid menstabilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga menjadi inaktif.<sup>74</sup> Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dengan metode mendonasikan atom hidrogennya ataupun melalui kemampuannya mengkelat logam, terletak dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) ataupun dalam bentuk bebas yang disebut aglikon.<sup>75</sup>

## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3. 1. Kerangka Teori

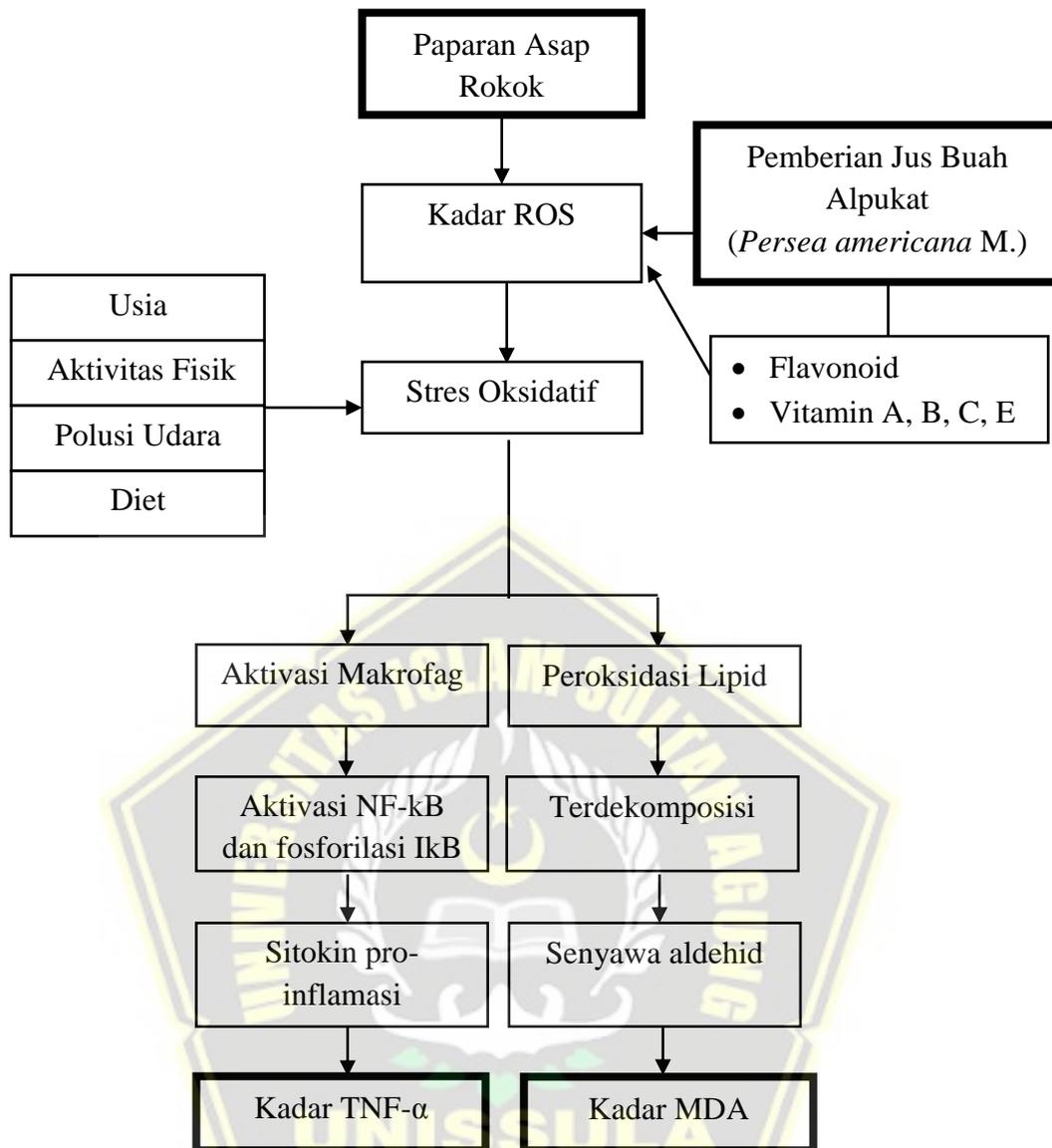
Asap rokok mengandung berbagai senyawa toksik seperti senyawa nikotin, tar, karbon monoksida, karbon dioksida, PAH (*Polynuclear Aromatic Hydrocarbon*) dan hidrogen peroksida. Hal ini akan mengakibatkan kerusakan dan gangguan fungsi sel serta mempengaruhi fungsi sistem organ.<sup>2</sup> Kandungan kimia berbahaya yang terdapat pada asap rokok karena pembakaran yang tidak sempurna membentuk radikal bebas. Radikal bebas dari pembakaran rokok berikatan dengan oksigen reaktif menghasilkan *reactive oxygen species (ROS)*.<sup>76</sup>

Ketidakeimbangan antara radikal bebas dan antioksidan didalam tubuh menghasilkan stress oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid.<sup>77</sup> Radikal bebas dapat menyebabkan meningkatkan peroksidasi lipid yang kemudian mengalami dekomposisi menjadi *malondialdehyde (MDA)* dalam darah. MDA merupakan penanda kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas.<sup>78</sup> Pada perokok terjadi ketidakseimbangan radikal bebas yang masuk dengan antioksidan yang dihasilkan sehingga pemberian asupan antioksidan dari luar tubuh dibutuhkan.<sup>29</sup>

Asap rokok yang mengandung radikal bebas masuk ke dalam paru-paru dan mengaktivasi makrofag. Keadaan tersebut memicu aktivasi NF-kB dan fosforilasi inhibitor NF-kB (I $\kappa$ B). Selanjutnya I $\kappa$ B mengalami

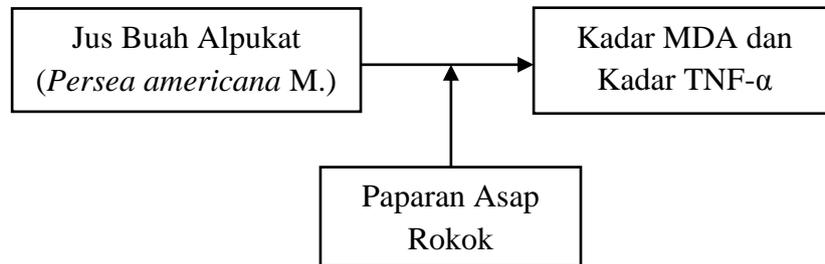
degradasi proteosomal sehingga NF-kB berikatan dengan target gen dan menstimulasi terjadinya transkripsi gen inflamasi di dalam nukleus. Aktivasi NF-kB yang mengalami peningkatan direspon oleh makrofag untuk memproduksi dan mensekresi sitokin proinflamatori TNF- $\alpha$  sebagai indikator terjadinya inflamasi.<sup>79</sup> Sitokin TNF- $\alpha$  bekerja dengan mengatur aktivasi, diferensiasi, dan proliferasi sel dalam proses inflamasi.<sup>80</sup>

Efek flavonoid sebagai antioksidan dapat menstabilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui reaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga stres oksidatif menurun dan peroksidasi lipid dapat ditekan. Penurunan ROS juga mengakibatkan NF-kB dan fosforilasi I $\kappa$ B tidak teraktivasi sehingga terjadi penurunan produksi TNF- $\alpha$  oleh makrofag. Penurunan TNF- $\alpha$  dan peroksidasi lipid dapat menekan terjadinya inflamasi dan kerusakan jaringan. Perlawanan utama terhadap stres oksidatif ini dapat dicapai dengan pemberian antioksidan. Peningkatan ROS pada paparan asap rokok dapat dinetralkan dengan mengonsumsi antioksidan dari luar tubuh seperti jus alpukat yang memiliki kandungan flavonoid, vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin E yang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

### 3. 2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

### 3. 3. Hipotesis

Ada pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana M.*) terhadap kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok.

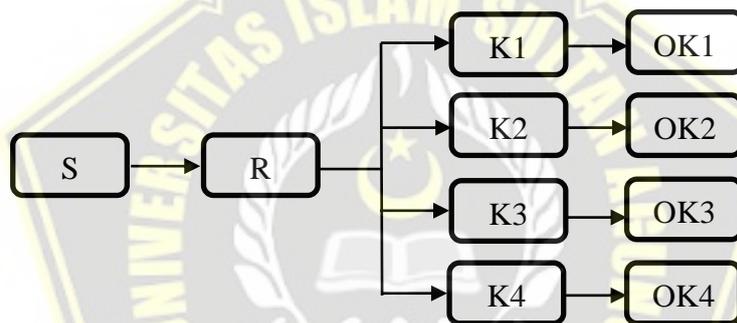


## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorium dengan pendekatan *post test only control group design* dengan menggunakan hewan coba tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok. Tujuannya adalah untuk mengetahui kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan setelah diberi jus alpukat.



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- S : Subyek penelitian
- R : Randomisasi menjadi 4 kelompok
- K1 : Kelompok kontrol dengan pemberian pakan standard tanpa diberi paparan asap rokok
- K2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian pakan standard yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari
- K3 : Kelompok perlakuan diberi pakan standard dan pemberian jus alpukat dengan dosis 2,7 gram/200g BB/hari yang di beri paparan asap rokok selama 14 hari
- K4 : Kelompok perlakuan diberi pakan standard dan pemberian jus alpukat dengan dosis 5,4 gram/200g BB/hari yang di beri paparan asap rokok selama 14 hari
- OK1 : Observasi pada kelompok 1
- OK2 : Observasi pada kelompok 2

- OK3 : Observasi pada kelompok 3  
OK4 : Observasi pada kelompok 4

## 4. 2. Populasi dan Sampel Penelitian

### 4. 2. 1. Populasi

Populasi penelitian yaitu tikus *wistar* jantan berumur 8 minggu, dengan berat 150-200 gram, yang didapat dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta. Tikus dipelihara dengan pakan standar *Comfeed AD II* dan air minum berupa air putih. Suhu ruangan pemeliharaan berkisar 28° – 30° C dengan ventilasi dan ruangan yang cukup. Tikus kemudian dilakukan adaptasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan.

### 4. 2. 2. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel penelitian ini menggunakan cara *simple random sampling*. Tikus *wistar* jantan sebanyak 20 ekor yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok secara acak sederhana, dengan satu kelompok kontrol dan tiga sebagai kelompok perlakuan.

#### 4. 2. 2. 1. Kriteria Inklusi

Kondisi fisik sehat, bergerak aktif dan tidak terlihat adanya abnormalitas anatomi pada tikus.

#### 4. 2. 2. 2. Kriteria Eksklusi

Tikus percobaan yang tidak aktif, lemah, cacat, serta telah mati sebelum mendapat perlakuan.

#### 4. 2. 2. 3. Kriteria *Drop Out*

Mati selama penelitian.

#### 4. 2. 3. Sampel

Besar sampel untuk penelitian eksperimental menggunakan hewan coba menurut WHO (2000) adalah sebanyak 5 ekor tiap kelompoknya. Pada penelitian ini terdapat 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Sehingga dapat ditentukan jumlah keseluruhan sampel yang digunakan :

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sampel} &= 5 \times \text{Jumlah Kelompok} \\ &= 5 \times 4 \\ &= 20 \text{ ekor tikus} \end{aligned}$$

Jadi jumlah sampel 20 ekor tikus, kemudian untuk setiap kelompok ditambah 1 ekor untuk mengantisipasi sampel yang *drop out*.

$$\begin{aligned} \text{Total sampel} &= \text{Jumlah sampel} + 1 \times \text{Jumlah Kelompok} \\ &= 20 + (1 \times 4) \\ &= 24 \text{ ekor tikus} \end{aligned}$$

Jadi total sampel yang digunakan 24 ekor tikus.<sup>81</sup>

### 4. 3. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

#### 4. 3. 1. Variabel

##### 4. 3. 1. 1. Variabel Bebas

Pemberian Jus Alpukat (*Persea americana M.*)

##### 4. 3. 1. 2. Variabel Tergantung

- a. Kadar *Malondialdehyde* (MDA)
- b. Kadar TNF- $\alpha$

##### 4. 3. 1. 3. Variabel Prakondisi

Paparan Asap Rokok

#### 4. 3. 2. Definisi Operasional

##### 4. 3. 2. 1. Jus Alpukat (*Persea americana M.*)

Sediaan alpukat dalam bentuk jus dibuat dengan penghacuran daging alpukat dengan alat blender. Diberikan kepada tikus *wistar* jantan dengan dosis berbeda untuk tiap kelompok perlakuan yaitu 2,7 gram/hari dan 5,4 gram/hari di sonde sebelum diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

Skala : Ordinal

##### 4. 3. 2. 2. *Malondialdehyde* (MDA)

*Malondialdehyde* (MDA) digunakan sebagai indikator atau penanda stres oksidatif, MDA terbentuk dari peroksidasi lipid di membran sel, yaitu reaksi antara radikal bebas (radikal hidroksi) dan *Poly Unsaturated*

*Fatty Acid* (PUFA).<sup>29</sup> Kadar MDA diperiksa dari sampel darah pada hari ke 15 dengan menggunakan metode TBARS dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm dengan satuan nmol/ml.

Skala : Rasio

#### 4. 3. 2. 3. TNF- $\alpha$

Pemeriksaan TNF- $\alpha$  dilakukan pada hari ke 15, dalam penelitian ini sampel darah diambil dari sinus orbital lalu darah dibuat serum 0,2 ml untuk tiap tikus, kemudian diukur kadar TNF- $\alpha$  menggunakan kit Immulite TNF- $\alpha$  dengan metode ELISA reader. Satuan kadar TNF- $\alpha$  adalah ng/ml.

Skala : Rasio

#### 4. 3. 2. 4. Asap Rokok

Paparan asap rokok menggunakan rokok kretek sebanyak 4 batang perhari selama 14 hari. Paparan asap rokok diberikan kepada kelompok (K2, K3 dan K4) kecuali kelompok kontrol tidak diberikan paparan asap rokok. Pengasapan ke tikus diberikan dengan cara berkelompok, pemaparan dengan menggunakan spuit tanpa jarum yang dihubungkan dengan selang diameter  $\pm$  3 mm kedalam kotak kaca sebanyak 4 batang perhari secara berturut-turut.

Skala : Rasio

#### **4. 4. Bahan atau Materi Penelitian**

##### **4. 4. 1. Bahan Pemberian**

Jus Alpukat (*Persea americana M.*)

##### **4. 4. 2. Bahan Pembuatan Asap Rokok**

Rokok Kretek

##### **4. 4. 3. Bahan Pemeriksaan MDA**

- a. Serum tikus
- b. Larutan TBA 0,37% dalam HCl 0,25 N
- c. Larutan TCA 15%

##### **4. 4. 4. Bahan Pemeriksaan TNF- $\alpha$**

- a. Semen tikus
- b. Reagen *Kit* TNF- $\alpha$

#### **4. 5. Peralatan**

- a. Kandang tikus dengan tempat pakan dengan ukuran P : 40 cm, L : 30 cm, T : 30 cm
- b. Timbangan tikus "*Nigushi Scale*"
- c. Gunting kecil
- d. Pisau silet
- e. Sonde oral
- f. Sarung tangan
- g. Kapas counter

- h. Pipet tetes
- i. Tabung *Eppendorf*
- j. *Cuvet*
- k. *Waterbath* dengan suhu 95°C
- l. Spektrofotometer
- m. Sentrifuge
- n. Mikropipet
- o. *ELISA reader*
- p. Kamera digital
- q. Kotak kaca untuk paparan asap rokok

#### **4. 6. Cara Penelitian dan Alur Penelitian**

##### **4. 6. 1. Cara Persiapan Sebelum Perlakuan**

- a. Sampel penelitian yaitu hewan coba harus masuk dalam kriteria inklusi, diambil secara acak sederhana sebanyak 20 ekor dengan rincian terdapat 4 kelompok dengan jumlah masing-masing sampel tiap kelompoknya adalah 5 ekor, terdiri dari satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan, kemudian diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari.
- b. Sampel sebanyak 20 ekor tikus jantan galur wistar diaklimitasi di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta.
- c. Jumlah makanan yang diberikan perhari pada tikus 15-20 gram dan air minum berupa air putih.

d. Pada 4 kelompok tikus diberikan makanan berupa pakan standar *Comfeed AD II* produksi PT. Japta Comfeed Indonesia, TBK dengan kadungan nutrisi terdiri dari:<sup>82</sup>

- Air : Maksimal 12%
- Protein kasar : Minimal 15%
- Lemak kasar : 3 - 7%
- Serat kasar : Maksimal 6%
- Abu : Maksimal 7%
- Kalsium : 0,9 - 1,1%
- Phosphor : 0,6 - 0,9%
- Coccidiostat : +
- Antibiotik : +

e. Tikus ditempatkan di kandang terpisah, sesuai kelompok dengan suhu lingkungan 28 - 30° C. Kandang dibersihkan dari kotoran tikus secara teratur.

#### 4. 6. 2. Cara Pembuatan Jus Alpukat

Buah alpukat dicuci bersih, dikupas kulitnya, diambil daging buahnya dan dipotong-potong kemudian dimasukkan ke dalam blender listrik. Dosis konsumsi jus alpukat harian untuk manusia = 300 gram/hari.<sup>83</sup> Konversi dosis manusia (70kg) dan pada tikus (BB = 200gram) yaitu 0,018. Sehingga didapatkan dosis pertama 2,7 gram/hari dan dosis kedua 5,4 gram/hari.

Selanjutnya jus alpukat dengan dosis tersebut diberikan pada tikus peroral dengan sonde satu kali sehari sebelum diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

#### **4. 6. 3. Cara Pemberian Paparan Asap Rokok**

Pemberian paparan asap rokok kretek dilakukan pada hari ke 8 setelah adaptasi, asap rokok diberikan dengan cara pemaparan dengan menggunakan spuit tanpa jarum yang dihubungkan dengan selang diameter  $\pm 3$  mm kedalam kotak kaca berukuran 50 cm x 30 cm dan diberikan 4 batang rokok kretek perhari secara berturut-turut per kelompok (K2, K3 dan K4) kecuali kelompok kontrol tidak diberikan paparan asap rokok.

#### **4. 6. 4. Perlakuan Hewan Coba**

Penelitian dilakukan dengan menggunakan tikus wistar jantan umur 8 minggu dengan berat badan 150 – 200 gram sebanyak 20 ekor. Penelitian dibagi 4 kelompok dan diberi perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus *wistar* jantan. Pembagian kelompok sebagai berikut:

- 1) Kelompok kontrol (K1) : 5 ekor tikus *wistar* jantan diberikan pakan standard tanpa diberi paparan asap rokok.
- 2) Kelompok perlakuan (K2) : 5 ekor tikus *wistar* jantan diberikan pakan standard yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

- 3) Kelompok perlakuan (K3) : 5 ekor tikus *wistar* jantan diberikan pakan standard dengan penambahan pemberian jus alpukat dengan dosis 2,7 gram/200g BB/hari yang di beri paparan asap rokok selama 14 hari.
- 4) Kelompok perlakuan (K4) : 5 ekor tikus *wistar* jantan diberikan standard dengan penambahan pemberian jus alpukat dengan dosis 5,4 gram/200g BB/hari yang di beri paparan asap rokok selama 14 hari.
- 5) Pada hari ke-15, tikus *wistar* jantan kemudian diambil darahnya guna pemeriksaan kadar MDA kadar TNF- $\alpha$ .

#### 4. 6. 5. Prosedur Pemeriksaan *Malondialdehyde* (MDA)

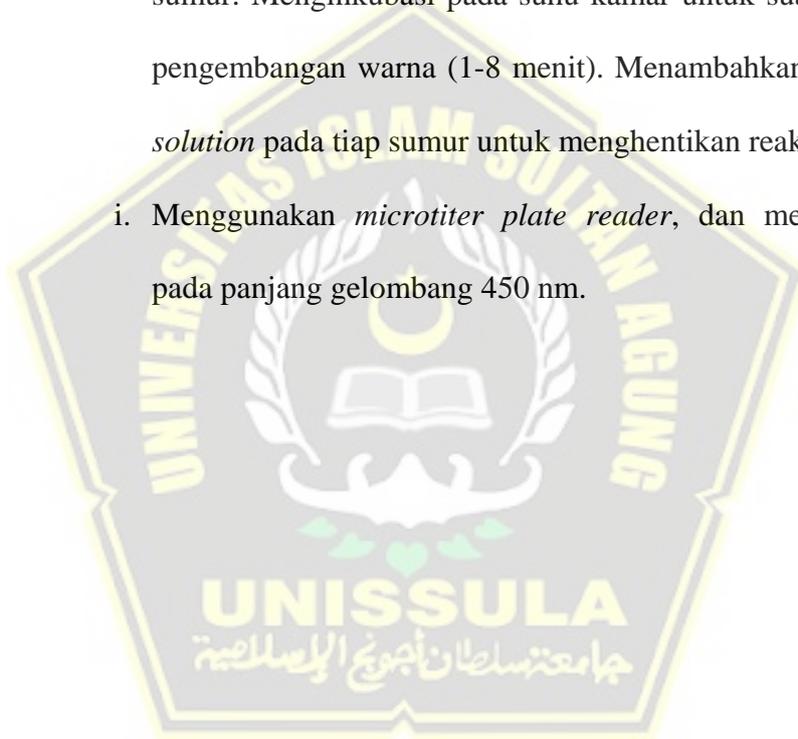
- a. Darah tikus *wistar* jantan diambil sebanyak 1 ml melalui sinus orbital.
- b. Sampel darah disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit, kemudian diambil supernatan sebanyak 200  $\mu$ L dimasukkan kedalam tabung sentrifuge. Ditambahkan larutan TCA 15% sebanyak 2000  $\mu$ L dan larutan TBA 0,37% dalam HCl 0,25N sebanyak 2000  $\mu$ L.
- c. Dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 95° C selama 60 menit.
- d. Didinginkan sampai mencapai suhu 30° C dan masukkan kedalam kolom *Sep-Park* C18.

- e. Sebelum digunakan kolom dicuci terlebih dahulu menggunakan *methanol* 5 ml dan air lalu dibuang.
- f. Campuran sampel dimasukkan kedalam kolom dan dibuang.
- g. TBA dilusi dari kolom dengan cara menambahkan 4 ml *methanol* dan kemudian ditampung dalam *cuvet*.
- h. Kepekatan warna dibaca menggunakan alat spektrofotometri pada panjang gelombang 532 nm.

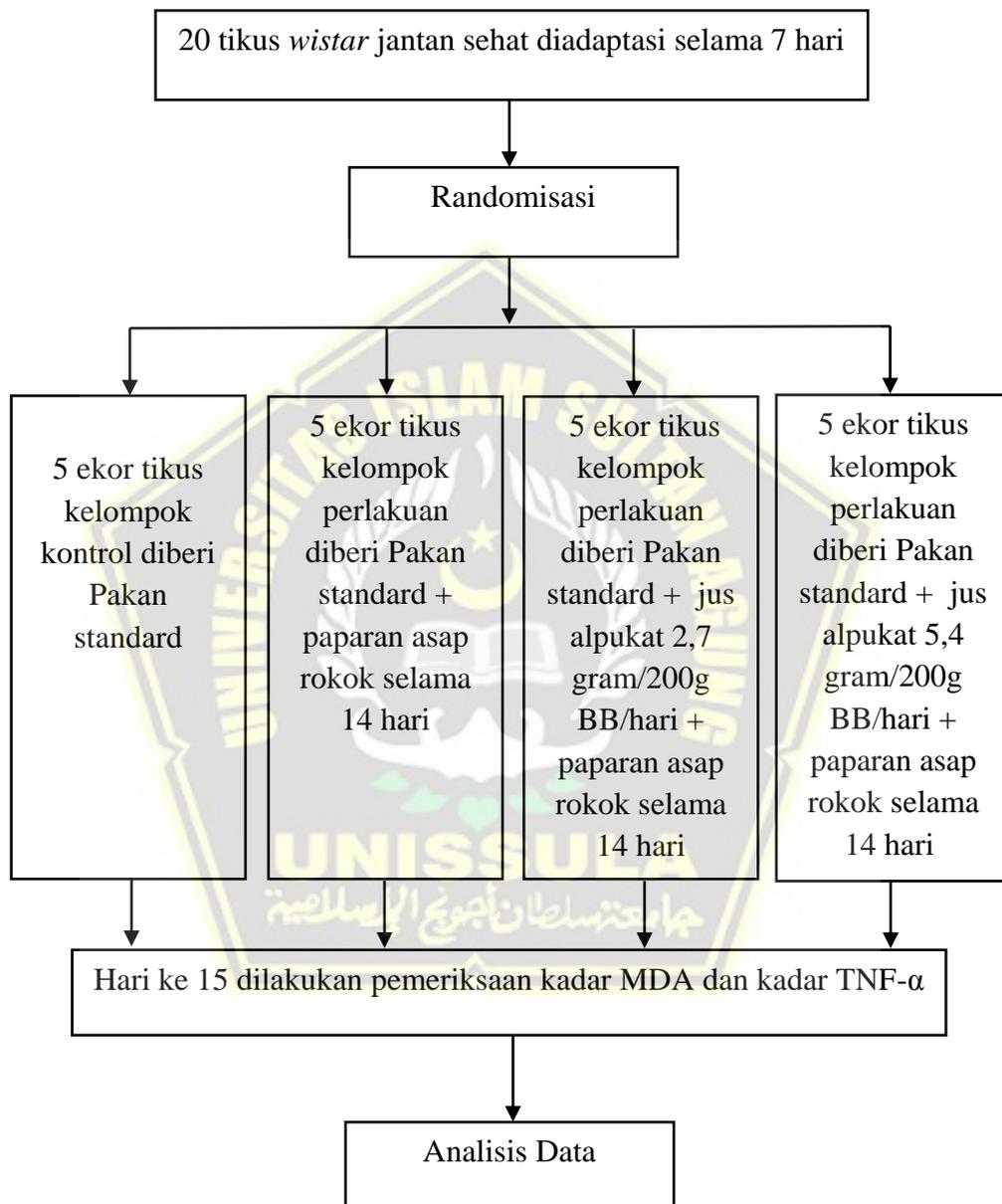
#### 4. 6. 6. Prosedur Pemeriksaan TNF- $\alpha$

- a. Menambahkan 200  $\mu$ l air pembilas ke dalam masing-masing sumur. Aspirasi sumur untuk menghilangkan cairan dan cuci plate 4x dengan menggunakan 300  $\mu$ l air pembilas setiap sumuran. Setelah bilasan terakhir, balik plate untuk menghilangkan cairan residu dan noda dengan handuk kertas. Catatan: sebelum *well* kering sempurna, segera dilakukan langkah selanjutnya.
- b. Menambahkan 100  $\mu$ l standar atau sampel untuk setiap well rangkap dua. Tutup dengan sediaan *Plate Sealer*. Inkubasi dalam suhu kamar setidaknya 2 jam.
- c. Mengaspirasi sumuran untuk menghilangkan cairan dan cuci plate 4x seperti pada langkah 1.
- d. Menambahkan 100  $\mu$ l cairan pendeteksi antibodi (0,5  $\mu$ g/ml) setiap sumur. Tutup dengan sediaan *Plate Sealer*. Inkubasi pada suhu ruang selama 2 jam.

- e. Mengaspirasi dan mencuci plate 4x seperti pada langkah 1.
- f. Menambahkan 100 ul cairan *Color Development Enzyme* (1:20 Pengenceran) setiap sumur. Menutup dengan sediaan *Plate Sealer* dan menginkubasi 30 menit pada suhu ruang (atau 37°C selama 30 menit).
- g. Mengaspirasi dan mencuci plate 4x seperti pada langkah 1.
- h. Menambahkan 100 ul *Color Development Solution* untuk tiap sumur. Menginkubasi pada suhu kamar untuk suatu ketepatan pengembangan warna (1-8 menit). Menambahkan 100 µl *stop solution* pada tiap sumur untuk menghentikan reaksi warna.
- i. Menggunakan *microtiter plate reader*, dan membaca plate pada panjang gelombang 450 nm.



#### 4. 6. 7. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

#### 4. 7. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian adalah menggunakan (pengamatan). Dalam metode observasi, peneliti melakukan pengamatan secara langsung terhadap tikus *wistar* jantan dan mengamati perubahan atau hal - hal yang akan diteliti.

#### **4. 8. Tempat dan Waktu Penelitian**

- a. Penelitian menggunakan hewan coba tikus dilakukan di laboratorium pusat studi pangan dan gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- b. Pemeriksaan kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  dilakukan di laboratorium pusat studi pangan dan gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

#### **4. 9. Metode Analisis Data**

Data rerata kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik. Kemudian data dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data dengan uji *Levene test*. Distribusi data kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$  normal dan homogen sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik uji *One Way Anova* yang didapatkan dengan nilai  $p < 0,05$  sehingga dilanjut dengan uji *poshoc* dengan uji *Tukey*.

## BAB V

### HASIL DAN PENELITIAN

#### 5. 1. Hasil Penelitian

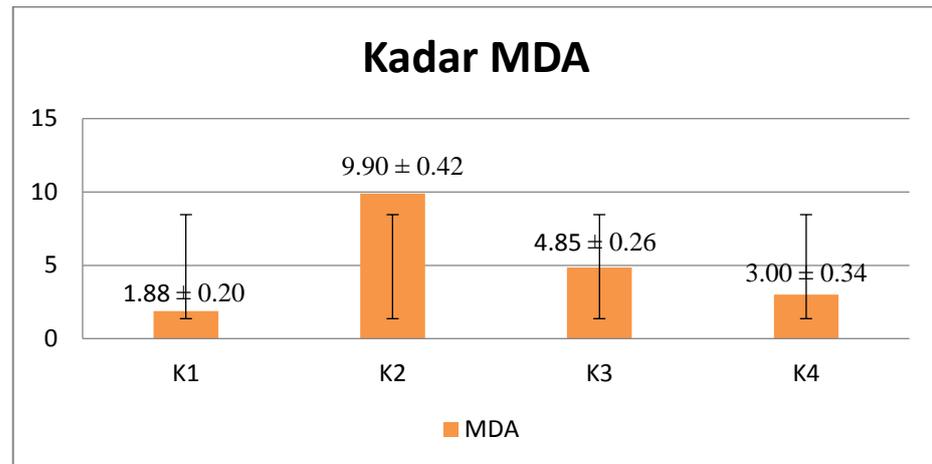
Penelitian ini menggunakan sampel 20 ekor tikus *wistar* jantan yang terbagi menjadi 4 kelompok masing-masing berjumlah 5 ekor tikus *wistar* jantan, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok 1 yaitu kelompok kontrol dengan pemberian pakan standard tanpa diberikan paparan asap rokok, kelompok 2 yaitu kelompok perlakuan dengan pemberian pakan standard yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari, kelompok 3 yaitu kelompok perlakuan diberi pakan standard dan pemberian jus alpukat dengan dosis 2,7 gram/200g BB/hari yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari, serta kelompok 4 yaitu kelompok perlakuan diberi pakan standard dan pemberian jus alpukat dengan dosis 5,4 gram/200g BB/hari yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari. Penelitian pemberian jus alpukat (*Persea aericana* M) terhadap kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

### 5. 1. 1. Hasil Analisis Pengukuran MDA dan TNF- $\alpha$

Pengukuran kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari. Penelitian diperoleh hasil pengukuran yang disajikan pada table 5.1. berikut:

**Tabel 5.1. Hasil Pengukuran MDA dan TNF- $\alpha$**

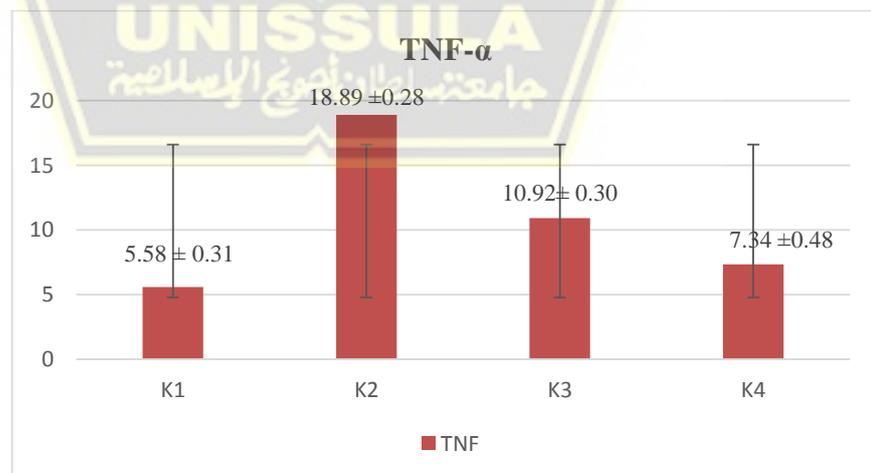
Kelompok	MDA	Mean $\pm$ SD	TNF	Mean $\pm$ SD	
K1	1	1.65	6.21		
	2	1.89	5.52		
	3	2.02	1.88 $\pm$ 0.20	6.01	5.58 $\pm$ 0.31
	4	2.14		6.31	
	5	1.71		5.82	
K2	1	9.35	18.58		
	2	9.6	19.07		
	3	10.34	9.90 $\pm$ 0.42	18.87	18.89 $\pm$ 0.28
	4	9.97		19.27	
	5	10.28		18.67	
K3	1	5.19	10.86		
	2	4.57	11.36		
	3	5.06	4.85 $\pm$ 0.26	10.56	10.92 $\pm$ 0.30
	4	4.81		11.06	
	5	4.63		10.76	
K4	1	3.14	8.29		
	2	2.89	7.89		
	3	2.45	3.00 $\pm$ 0.34	7.6	7.34 $\pm$ 0.48
	4	3.32		8.59	
	5	3.2		7.4	
<i>One Way Anova</i>		0.000		0.000	



**Gambar 5.1. Grafik Nilai Rata-rata Kadar MDA pada masing-masing kelompok**

#### Kadar MDA

Berdasarkan gambar 5.1. menginformasikan rata-rata dan standar deviasi kadar MDA pada tikus wistar dari empat kelompok, untuk kelompok kontrol K1 memiliki rata-rata MDA  $1,88 \pm 0,20$ , kelompok perlakuan K2 memiliki rata-rata MDA  $9,90 \pm 0,42$ , kelompok perlakuan K3 memiliki rata-rata MDA  $4,85 \pm 0,26$ , serta kelompok perlakuan K4 memiliki rata-rata MDA  $3,00 \pm 0,34$ .



**Gambar 5.2. Grafik Nilai Rata-rata Kadar TNF-α pada masing-masing kelompok**

### **Kadar TNF- $\alpha$**

Berdasarkan gambar 5.2. menginformasikan rata-rata dan standar deviasi kadar TNF- $\alpha$  pada tikus wistar dari empat kelompok, untuk kelompok kontrol K1 memiliki rata-rata TNF- $\alpha$   $5.58 \pm 0.31$ , kelompok perlakuan K2 memiliki rata-rata TNF- $\alpha$   $18.89 \pm 0.28$ , kelompok perlakuan K3 memiliki rata-rata TNF- $\alpha$   $10.92 \pm 0.30$ , serta kelompok perlakuan K4 memiliki rata-rata TNF- $\alpha$   $7.34 \pm 0.48$ .

Berdasarkan analisis deskriptif dari keempat kelompok pada penelitian ini, dapat diketahui bahwa kelompok perlakuan K2 yaitu pemberian asap rokok tanpa pemberian jus alpukat (*Persea americana* M) memiliki kadar MDA dan TNF- $\alpha$  paling tinggi sedangkan kelompok kontrol K1 tanpa pemberian asap rokok memiliki rata-rata MDA dan TNF- $\alpha$  paling rendah, yang artinya pada keadaan normal, radikal bebas yang terbentuk didalam tubuh sangat lambat dan perlahan.

#### **5. 1. 2. Uji Normalitas**

Uji normalitas terhadap kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada tikus yang dipapar asap rokok berdasarkan pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) dapat dilihat melalui tabel berikut ini:

**Tabel 5.2. Uji Normalitas (*Shapiro-Wilk*)**

<b>Kadar MDA</b>	<b>P</b>	<b>Kadar TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>P</b>
Kelompok 1	0.727	Kelompok 1	0.802
Kelompok 2	0.526	Kelompok 2	0.794
Kelompok 3	0.554	Kelompok 3	0.940
Kelompok 4	0.382	Kelompok 4	0.816

Berdasarkan tabel 5.2. dapat diketahui bahwa uji normalitas *Shapiro wilk* diperoleh bahwa pada kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- $\alpha$ ) dengan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05  $p > 0,05$ , sehingga hal ini dapat diartikan bahwa data distribusi tersebut dinyatakan normal.

### 5. 1. 3. Uji Homogenitas

Uji homogenitas terhadap kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada tikus wistar yang dipapar rokok berdasarkan pemberian jus alpukat didapatkan hasil sebagai berikut:

**Tabel 5.3. Uji Homogenitas *Levene Test***

<b>Kadar</b>	<b>P</b>
MDA	0.283
TNF- $\alpha$	0.306

Berdasarkan tabel 5.3. dapat diketahui bahwa uji homogenitas kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) yang dipapar asap rokok diperoleh bahwa nilai sig

pada kadar MDA dan TNF- $\alpha$  memiliki nilai lebih dari p-value 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut dinyatakan memiliki ragam yang homogen.

#### 5. 1. 4. Uji *One Way Anova*

Uji pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada tikus yang terpapar asap rokok dapat dilihat melalui tabel berikut:

**Tabel 5.4. Hasil Uji Beda *One Way Anova***

<b>Kadar</b>	<b>P</b>
MDA	0.000
TNF- $\alpha$	0.000

Berdasarkan tabel 5.4. menginformasikan bahwa uji beda pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada tikus yang dipapar asap rokok menghasilkan statistika uji F sebesar 604.016 untuk MDA dan 1261.114 untuk TNF- $\alpha$  sementara untuk nilai sig. 0.000. Sehingga berdasarkan uji ANOVA diperoleh bahwa untuk Kadar MDA dan TNF- $\alpha$  dengan nilai sig sebesar 0,000 yang artinya ada pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M) terhadap kadar MDA serta kadar TNF- $\alpha$ .

### 5. 1. 5. Uji Tukey

**Tabel 5.5. Hasil Analisis Kadar MDA dengan Uji *Pos Hoc Tukey***

	K2	K3	K4
K1	0,000	0,000	0,000
K2		0,000	0,000
K3			0,000

Berdasarkan tabel 5.5. diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok kadar MDA dimana ( $P < 0,05$ ). perbedaan tersebut terdapat pada K1 dengan K2 dengan nilai 0,000, K1 dengan K3 dengan nilai 0,000, K1 dengan K4 dengan nilai 0,000. Selain itu K2 dengan K3 dengan nilai 0,000, K2 dengan K4 dengan nilai 0,000, serta K3 dengan K4 dengan nilai 0,000. Dari nilai tersebut maka dapat dilihat bahwa masing-masing kelompok pada kadar MDA terdapat perbedaan yang signifikan.

**Tabel 5.6. Hasil Analisis Kadar TNF dengan Uji *Pos Hoc Tukey***

	K2	K3	K4
K1	0,000	0,000	0,000
K2		0,000	0,000
K3			0,000

Berdasarkan tabel 5.6. diatas diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok pada kadar TNF- $\alpha$  dimana ( $P < 0,05$ ). perbedaan tersebut terdapat pada K1

dengan K2 dengan nilai 0,000, K1 dengan K3 dengan nilai 0,000, K1 dengan K4 dengan nilai 0,000. Selain itu K2 dengan K3 dengan nilai 0,000, K2 dengan K4 dengan nilai 0,000, serta K3 dengan K4 dengan nilai 0,000. Dari nilai tersebut maka dapat dilihat bahwa masing-masing kelompok pada kadar TNF- $\alpha$  terdapat perbedaan yang signifikan.

## 5. 2. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea Americana* M.) terhadap kadar MDA dan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok dalam waktu 14 hari. Tikus *wistar* jantan sebanyak 20 ekor yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K1) yaitu tanpa asap rokok, sedangkan kelompok perlakuan ada tiga yaitu kelompok perlakuan dengan pemberian pakan standard yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari (K2), kelompok perlakuan diberi pakan standard dan pemberian jus alpukat dosis 2,7 gram/ 200g BB/hari serta diberi paparan asap rokok selama 14 hari (K3), kelompok perlakuan diberi pakan standard dan pemberian jus alpukat dengan dosis 5,4 gram/ 200g BB/hari serta diberi paparan asap rokok selama 14 hari (K4).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar MDA pada kelompok perlakuan untuk mengetahui kadar MDA pada kondisi perlakuan dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Berdasarkan analisis deskriptif, rata-rata kadar MDA pada kelompok control K1 berkisar

1.88 ± 0.20 sedangkan kelompok perlakuan tanpa pemberian jus alpukat K2 berkisar 9.90 ± 0.42, sementara kelompok K3 4.85 ± 0.26 dan K4 besarnya 3.00 ± 0.34 yaitu kelompok-kelompok perlakuan pemberian asap rokok dan pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) dengan berbeda dosisnya. Hasil keempat kelompok terlihat kadar MDA yang paling besar adalah kelompok perlakuan pemberian asap rokok (K2) tanpa pemberian jus alpukat, data tersebut menunjukkan bahwa pemberian asap rokok sebagai bentuk perlakuan berdampak pada peningkatan radikal bebas dalam tubuh tikus wistar yang ditunjukkan kadar MDA sebagai marker terjadinya stres oksidatif. Asap rokok memiliki kandungan senyawa bahan kimia yang bersifat toksik maupun karsinogen<sup>84</sup>. Kandungan tersebut biasa kita anggap sebagai radikal bebas (*reactive oxygen spesies/ ROS*) yang mana hal ini mengakibatkan aktivitas merokok atau terpapar asap rokok bisa menjadi salah satu faktor yang menyebabkan peningkatan kadar radikal bebas didalam tubuh selain adanya produksi radikal bebas itu sendiri secara alami oleh tubuh. Pada kondisi wajar, radikal bebas tersebut akan dapat dihilangkan ditangkap, dibersihkan, dan ditahan pembentukannya dengan mengkonversinya menjadi suatu senyawa radikal dengan bentuk yang lebih stabil sehingga tidak sampai pada pembentukan reaksi berantai dengan menyerang senyawa lain<sup>85</sup>. Namun, seringkali paparan radikal bebas ini terlalu tinggi akibat aktivitas manusia seperti adanya paparan zat kimia, contohnya merokok, baik yang sengaja (perokok aktif), maupun tidak (perokok pasif) serta tingginya aktivitas fisik yang dilakukan<sup>86</sup>. Kondisi

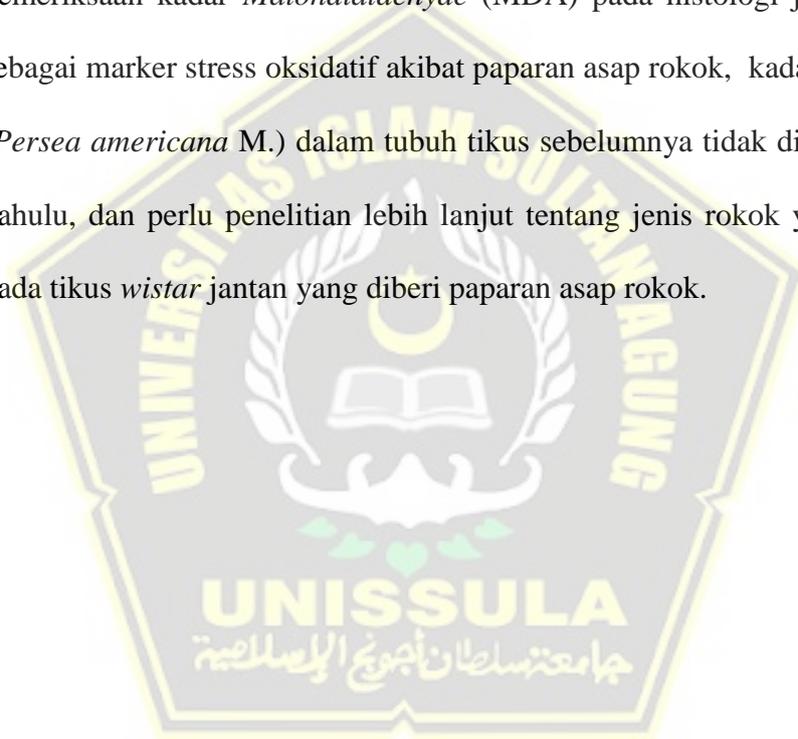
dimana terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi radikal bebas dengan antioksidan didalam tubuh mampu menghasilkan kondisi yang disebut stres oksidatif<sup>87</sup>.

Berdasarkan hasil penelitian, kelompok K2 adalah kelompok dengan rata-rata MDA tertinggi  $9.90 \pm 0.42$ , hal ini dikarenakan paparan radikal bebas yang tinggi (jangka waktu 14 hari) tidak disertai dengan adanya bantuan pemberian asupan antioksidan eksogen. Hal ini menunjukkan bahwa paparan radikal bebas tersebut tidak mampu untuk dikompensasi oleh mekanisme pertahanan tubuh karena adanya konsentrasinya yang tinggi dan tubuh menjadi jatuh dalam kondisi stres oksidatif. Selain kadar MDA dalam penelitian ini juga mengukur kadar TNF- $\alpha$  yang didapatkan hasil pada kelompok kontrol K1  $5.58 \pm 0.31$ , kelompok perlakuan tanpa pemberian jus alpukat K2  $18.89 \pm 0.28$ , kelompok perlakuan dengan pemberian jus alpukat beda dosis yaitu K3  $10.92 \pm 0.30$ , serta K4  $7.34 \pm 0.48$ . Dari penelitian dihasilkan kadar TNF- $\alpha$  paling tinggi adalah kelompok perlakuan tanpa pemberian jus alpukat (K2), hal ini disebabkan paparan radikal bebas yang terus menerus selama 14 hari tidak disertai pemberian terapi antioksidan sehingga tidak ada yang menangkap radikal bebas yang berasal dari asap rokok tersebut. Pemberian asap rokok ini bekerja dengan cara menyebabkan pergerakan makrofag, neutrofil, dan limfosit T kedalam saluran pernapasan dan memicu aktivasi dari berbagai mediator inflamasi dan faktor kemotaktik, yaitu TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, MCP-1, leukotrine LTB<sub>4</sub>, ROS, dan sekresi enzim proteolitik seperti MMP-9 dan MMP-12<sup>88</sup>. TNF- $\alpha$

disekresikan oleh makrofag yang diaktivasi oleh asap rokok melalui jalur classic MAPK yang meemditasi pembentukan protease dan sitokin inflamasi sehingga pemaparan asap rokok dapt menyebabkan peningkatan TNF- $\alpha$  dan menginisiasi respon inflamasi<sup>10</sup>. Pada saat radikal bebas (asap rokok) maka produksi ROS (*Reactive Oxygenated Spesies*) maka terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan endogen, sehingga terjadilah ketidakstabilan (stres) oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid berlebihan dan menghasilkan kadar MDA meningkat.

Kelompok perlakuan K3 dan K4 yaitu kelompok yang diberi perlakuan namun diberi jus alpukat (*Persea americana* M.) dengan perbedaan dosis memiliki kadar MDA dan TNF- $\alpha$  diantara kelompok kontrol (K1) dan kelompok perlakuan tanpa pemberian jus alpukat (K2), hal ini disebabkan jus alpukat mengandung vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan vitamin E, lemak, karbohidrat, asam folat, dan protein, dimana vitamin C merupakan antioksidan larut dalam air, dimana antioksidan tersebut mampu bereaksi dengan radikal bebas. Kandungan lain flavonoid memiliki aktivitas kuat terhadap antioksidan sehingga mampu melindungi dari zat toksik disuatu organ dan mencegah kerusakan sel. Hal ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar MDA dan TNF- $\alpha$ , semakin tinggi dosis jus alpukat yang diberikan pada tikus didapatkan hasil kadar MDA dan TNF- $\alpha$  semakin menurun, dengan dosis jus alpukat 200mg/kgBB merupakan dosis yang mampu menurunkan kadar

MDA dan TNF- $\alpha$ . Asap rokok memproduksi sejumlah besar ROS (*Reactive Oxygenated Spesies*) yang mengaktivasi signal intraseluler pada sel endotel yang memicu aktivasi gendan pembentukan mediator inflamasi yang mengakibatkan Sitokin-inflamasi. Sitokin inflamasi tersebut juga diakibatkan oleh aktivasi makrofag dan molekul lain NF-kB serta fosforilasi I $\kappa$ B yang meningkatkan kadar TNF- $\alpha$ . Ada beberapa keterbatasan dalam penelitian ini diantaranya yaitu perlu dilakukan pemeriksaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada histologi jaringan paru sebagai marker stress oksidatif akibat paparan asap rokok, kadar jus alpukat (*Persea americana* M.) dalam tubuh tikus sebelumnya tidak diukur terlebih dahulu, dan perlu penelitian lebih lanjut tentang jenis rokok yang berbeda pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6. 1. Kesimpulan

1. Pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) mempengaruhi kadar MDA pada tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari.
2. Pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) mempengaruhi kadar TNF- $\alpha$  pada tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

#### 6. 2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan pemeriksaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada histologi jaringan paru sebagai marker stress oksidatif akibat paparan asap rokok.
2. Perlu penelitian lebih lanjut tentang kadar jus alpukat (*Persea americana* M.) dalam tubuh tikus sebelumnya tidak diukur terlebih dahulu.
3. Perlu penelitian lebih lanjut tentang jenis rokok yang berbeda pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Fitria, Triandhini R, Mangimbulude JC, Karwur FF. Merokok dan Oksidasi DNA. *Sains Med.* 2013;5(2):113-120. <http://jurnal.unissula.ac.id/index.php/sainsmedika/article/view/352/291>
2. Lestari ND, Tjandrakirana, Rahayu YS. Pengaruh Filtrat Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus*) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Asap Rokok. *Lentera Bio.* 2018;7(1):55-60.
3. (Riskesdas) RKD. *Ministry of Health*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB); 2018.
4. Susanti YE, Wirjatmadi B, Adriani M. Pengaruh ekstrak melon terhadap kadar HbCO pada tikus Wistar jantan yang dipapar asap rokok. *J Gizi Klin Indones.* 2017;13(3):105-110.
5. Inoue M. Protective Mechanisms Against Reactive Oxygen Species. *Liver Biol Pathobiol.* Published online 2001:281-290.
6. Somwanshi SD, Madole MB, Ghuge S, Bikkad M, Ingle SB. Effects of cigarette smoking on lipid peroxidation in semen. *Int J Basic Appl Med Sci.* 2013;3(2):289-294. doi:10.1515/JBCPP.2002.13.1.69
7. Kashinakunti SV, Kollur P, Kallaganada GS, Rangappa M, Ingin JB. Comparative study of serum MDA and vitamin C levels in non-smokers, chronic smokers and chronic smokers with acute myocardial infarction in men. *J Res Med Sci.* 2011;16(8):993-998. doi:10.4314/ajcem.v12i3.
8. Rahman D. Pengaruh Akitfitas Fisik Maksimal Terhadap Jumlah Leukosit dan Hitung Jenis Leukosit pada Atlet Softball. *J Ilm Ilmu Keolahragaan.* 2018;2(1):1-9.
9. Fajri HR, Argarini R, Effendi C. Pengaruh Pemberian *Glutathione* Pra Latihan Submaksimal Terhadap Jumlah Trombosit dan Masa Perdarahan : Studi Eksperimental Pada Hewan Coba. *Sport Fit J.* 2015;3(1):50-58.
10. Kusumastuty I, Adi P, H LB, N FA. Pengaruh Pemberian Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas Lam*) terhadap Kadar TNF- A , Il-6 dan Nf- K b pada Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *J Kedokt Brawijaya.* 2015;28(3):228-232.
11. Oktaviana LP. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) Terhadap Penurunan Kadar TNF- $\alpha$  dan Peningkatan Jumlah Folikel Antral pada Ovarium *Rattus norvegicus* yang Dipapar Asap Rokok. Published online 2018.

12. Nazarina N, Christijani R, Sari YD. Faktor-faktor yang berhubungan dengan kadar malondialdehyde plasma pada penyandang diabetes mellitus tipe 2. *J Gizi Klin Indones*. 2013;9(3):139. doi:10.22146/ijcn.15447
13. Sitohang AG, Wantouw B, Queljoe E De. Perbedaan Antara Efek Pemberian Vitamin C Dan Vitamin E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Jantan Setelah Diberi Paparan Asap Rokok. *J e-Biomedik*. 2015;3(1).
14. Rahayu S, Tjitraesmi A. Tanaman Pepaya (*Carica papaya L .*) dan Manfaatnya dalam Pengobatan. *J Farmaka*. 2016;14(1):1-17.
15. Sutrisna E, Trisharyanti Ik, Munawaroh R, Dwi Mahendra A. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Biji Alpukat (*Persea Americana Mill*) Dengan Metode Dpph. *Univ Res Colloq*. 2015;ISSN 2407-(1):167-170.
16. Purnamayati L. Kajian Substitusi Krim Dengan Daging Buah Alpukat (*Persea Americana Mill*) Terhadap Sifat Es Krim Skripsi. *Fak Pertan Univ Sebel Maret*. Published online 2008.
17. Arukwe U, Amadi B, Duru M, et al. Chemical Composition of *Persea Americana* Leaf, Fruit and Seed. *IJRRAS*. 2012;11(2):346-349.
18. Yuniastuti A, Iswari RS. Effect of *Persea Americana Mill* Juice On Serum Homocystein And Plasma Malondialdehyde Levels On Stertozotocyn Induced Sprague Dawley Rats. *Biol Dep Math Nat Sci Fac Univ Semarang*. Published online 2015.
19. Al-tameemi SA, Hameed NJ, Gomes KB, Abid HA. Cigarette smoking increases plasma levels of IL-6 and TNF-  $\alpha$ . *Baghdad J Biochem Appl Biol Sci*. 2022;3(01):60-69.
20. Etha R. Electric Cigarettes's Effect to The MDA Levels In Blood of Wistar Rat. *J Hum Care*. 2020;5(1):233-241.
21. Pratiwi YS, Prabowo S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana*) Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) Jaringan Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi. *Hang Tuah Med J*. 2018;15(2):177-191.
22. Asni E, Harahap IP, Prijanti AR, Wanandi SI, Jusman SWA, Sadikin M. Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan terhadap Kadar Malondialdehyd, Glutation Tereduksi dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus. *Maj Kedokt Indon*. 2009;59(12):595-600.
23. Winarsi H. *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas Potensi Dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Kanisius; 2007.

24. Situmorang N, Zulham. Malondialdehyde (MDA). *J Keperawatan dan Fisioter.* 2020;2(2):117-123.
25. Yunus M. Pengaruh Antioksidan Vitamin C Terhadap MDA Eritrosit Tikus Wistar Akibat Latihan Anaerobik. *J Pendidik Jasm.* 2001;(1):9-16.
26. Marciniak A, Brzeszczynska J, Gwozdziński K, Jegier A. Antioxidant capacity and physical exercise. *Biol Sport.* 2009;26(3):197-213. doi:10.5604/20831862.894649
27. Setiawan DI, Tjahyono K, Afifah DN. Pemberian kacang kedelai terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan *superoxide dismutase* (SOD) tikus *Sprague Dawley* hiperkolesterolemia. *J Gizi Klin Indones.* 2016;13(1):20. doi:10.22146/ijcn.22815
28. Apriyanto KD. Pemberian Madu Sebelum Aktivitas Fisik Intensitas Sedang Terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Tikus Wistar. *Medikora.* Published online 2018:73-82.
29. Sirait CR, Tjahjono K, Setyawati AN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Sprague Dawley Setelah Diberikan Paparan Asap Rokok. *J Kedokt Diponegoro.* 2016;5(4):1603-1612.
30. Nayanatara AK, Nagaraja HS, Anupama BK. The Effect of Repeated Swimming Stress On Organ Weights and Lipid Peroxidation In Rats. *Thai J Physiol Sci.* 2005;18(1):3-9. doi:10.18276/cej.2017.2-08
31. Wahdaningsih S, Untari EK. Pengaruh Pemberian Fraksi Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Kadar Malondialdehid Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Yang Mengalami Stres Oksidatif. *J Pharmascience.* 2016;3(1):45-55.
32. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology.* 9th ed. Elsevier Saunders; 2016.
33. Wu Y, Zhou BP. TNF- $\alpha$ /NF $\kappa$ -B/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *Br J Cancer.* 2010;102(4):639-644. doi:10.1038/sj.bjc.6605530
34. Baratawidjaja K., Rengganis I. *Imunologi Dasar.* 11th ed. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2014.
35. Cruceriu D, Baldasici O, Balacescu O, Berindan-Neagoe I. The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches. *Cell Oncol.* 2020;43(1). doi:10.1007/s13402-019-00489-1

36. Campanati A, Paolinelli M, Diotallevi F, Martina E, Molinelli E, Offidani A. Pharmacodynamics OF TNF  $\alpha$  inhibitors for the treatment of psoriasis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2019;15(11):913-925. doi:10.1080/17425255.2019.1681969
37. Urschel K, Cicha I. TNF- $\alpha$  in the cardiovascular system: From physiology to therapy. *Int J Interf Cytokine Mediat Res.* 2015;7:9-25. doi:10.2147/IJICMR.S64894
38. Supit IA, Pangemanan DHC, Marunduh SR. Profil Tumor Necrosis Factor (Tnf-A) Berdasarkan Indeks Massa Tubuh (Imt) Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Unsrat Angkatan 2014. *J e-Biomedik.* 2015;3(2):640-643. doi:10.35790/ebm.3.2.2015.8621
39. Barnes PJ. Mediators of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Pharmacology.* 2005;56(4):515-548. doi:10.1124/pr.56.4.2
40. Agustí A. Systemic Effects of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2007;4:522-525. doi:10.1513/pats.200701-004FM
41. Gold WM. *Pulmonary Function Test. In : Gold WM, Murray JF, Nadel JA. Procedure in Respiratory Medicine.* W.B. Saunders Company; 2002.
42. Prasetyowati, Pratiwi R, Tris O F. Pengambilan Minyak Biji Alpukat (*Persea Americana Mill*) Dengan Metode Ekstraksi. *J Tek Kim.* 2010;17(2):16-24.
43. Handayani AP, Citra H. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat (*Persea Americana Mill* Terhadap Formula Sabun Transparan. Published online 2009.
44. United States Department of Agriculture. *Persea americana Mill, Natural Resources Conversation Service.* Published 2014. <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=PEAM3>
45. Chandra A, Ingrid HM, Verawati. Pengaruh pH dan Jenis Larutan Perendam pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpukat. *Lemb Penelit dan Pengabd Kpd Masy Univ Katolik Parahyangan.* Published online 2013. <http://journal.unpar.ac.id/index.php/rekayasa/article/viewFile/253/238>
46. Wardhana W, Sopyan I, Wathoni N. Pemanfaatan Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana , Mill.*) Menjadi Sediaan Moisturizing Gel dengan Menggunakan Teknologi Thixogel. *Fak Farm Univ Padjadjaran.* Published online 2009.
47. Parwata MOA. Antioksidan. *Kim Terap Progr Pascasarj Univ Udayana.*

Published online 2016:1-54.

48. Tirtosastro S, Murdiyati AS. Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok. *Bul Tanam Tembakau, Serat Miny Ind.* 2010;2(1):33-43.
49. Smith CJ, Fischer TH. Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2001;158(2):257-267. doi:10.1016/S0021-9150(01)00570-6
50. Govind AP, Vezina P, Green WN. Nicotine-induced Upregulation of Nicotinic Receptors: Underlying Mechanisms and Relevance to Nicotine Addiction. *Biochem Pharmacol.* 2009;78(7):756-765. doi:10.1016/j.bcp.2009.06.011.Nicotine-induced
51. Mansvelder HD, McGehee DS. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J Neurobiol.* 2002;53(4):606-617. doi:10.1002/neu.10148
52. Ikawati Z. *Pengantar Farmakologi Molekuler.* Gajah Mada University Press; 2006.
53. Le Houezec J. Role of nicotine pharmacokinetics in nicotine addiction and nicotine replacement therapy: A review. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;7(9):811-819.
54. Anggi Gayatri, Agus Dwi Susanto AS. Nicotine Replacement Therapy. 2012;39(1):25-30.
55. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 109 Tahun 2012 Tentang Pengamanan Bahan Yang Mengandung Zat Adiktif Berupa Produk Tembakau Bagi Kesehatan. Published online 2012.
56. Gondodiputro S. Bahaya Tembakau dan Bentuk-Bentuk Sediaan Tembakau. *Bagian Ilmu Kesehat Masy Fak Kedokt Univ Padjadjaran Bandung.* Published online 2007.
57. Munarka AQ. Hubungan Antara Pengetahuan Tentang Bahaya Merokok dengan Perilaku Merokok pada Mahasiswa Fakultas Ekonomi Jurusan Ilmu Ekonomi Study Pembangunan Universitas Muhammadiyah Makassar Siska. *Fak Kedokt Univ Muhammadiyah Makassar.* Published online 2014.
58. Sinaga FA. Stress oksidatif dan status antioksidan pada aktivitas fisik maksimal. *J Gener Kampus.* 2016;9(2):176-189.
59. Slauch JM. How Does The Oxidative Burst of Macrophages Kill Bacteria? Still an Open Question. *Mol Microbiol.* 2011;80(3):580-583. doi:10.1111/j.1365-2958.2011.07612.x.How

60. Goel R, Durand E, Trushin N, et al. Highly Reactive Free Radicals in Electronic Cigarette Aerosols. *Chem Res Toxicol*. 2015;28(9):1675-1677. doi:10.1021/acs.chemrestox.5b00220.Highly
61. Arief S. Radikal Bebas. *SMF Ilmu Kesehat FK UNAIR*. Published online 2010:1-9.
62. Choliso Z, Utami W. Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Ethanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Pharmacon*. 2008;9(1):33-40.
63. Sri K. *Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas*. Trubus Agrisarana; 2006.
64. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(10):1731-1737. doi:10.1016/j.jacc.2003.12.047
65. Khan YH, Abid A, Liaqat A, et al. Cigarette Smoking and Neurological Disorders: From Exposure to Therapeutic Interventions. *Springer Nat Switz AG*. Published online 2021:111-124. doi:10.1007/978-3-030-66376-6\_6
66. Kefer JC, Agarwal A, Sabanegh E. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *Int J Urol*. 2009;16:449-457.
67. Suryadinata RV. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis ( PPOK ). Published online 2018:317-324. doi:10.20473/amnt.v2.i4.2018.317-324
68. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. 2018;9(6):7204-7218.
69. Pillon NJ, Soulage CO. Lipid Peroxidation by-Products and the Metabolic Syndrome. *Intech*. Published online 2012.
70. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C, Prashast P. Lycopene and male infertility. *Asian J Androl*. 2014;16:420-425. doi:10.4103/1008-682X.126384
71. Sri Wahdaningsih, Erna Prawita Setyowati SW. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Maj Obat Tradis*. 2011;16(3):156-160.
72. Asngad A, Subiakto DW. Potensi Ekstrak Biji Alpukat Sebagai Hand Sanitizer Alami : Literatur Review. *J Fak Kegur dan Ilmu Pendidik*. 2020;6(2):106-110. doi:10.23917/bioeksperimen.v5i1.2795
73. Tabeshpour J, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Effects of Avocado (*Persea americana*) on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Systematic

- Review. *Phyther Res.* 2017;31(6):819-837. doi:10.1002/ptr.5805
74. Pradita CD. Uji Efek Antiinflamasi Dekokta Kulit Alpukat (*Persea americana* Mill.) pada Mencit Jantan Galur Swiss Terinduksi Karagenin. *Fak Farm Univ Sanata Dharma*. Published online 2017.
  75. Redha A. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *J Belian*. 2010;9(2):196-202. doi:10.1186/2110-5820-1-7
  76. Angelis N, Porpodis K, Zarogoulidis P, et al. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *J Thorac Dis.* 2014;6(SUPPL1):4-9. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2014.03.07
  77. Kurnia H, Permatasari N, Subandi. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam terhadap MDA dan Sel Spermatogonium Tikus yang Dipapar Asap Rokok Kretek Subakut. *J Kedokt Brawijaya*. 2011;26(3):161-165.
  78. Latifa KI, Azizah T, Kusuma ITD. Profil kadar mda (*malondialdehyde*) pada tikus yang diberikan ekstrak herba thymi (*thymus vulgaris [L.]*). *Naskah Publ Fak Farm Univ Muhammadiyah Surakarta*. Published online 2015:1-10.
  79. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The Effects of Diet on Inflammation Emphasis on the Metabolic Syndrome. *Am Coll Cardiol.* 2006;48(4). doi:10.1016/j.jacc.2006.03.052
  80. Bratawidjaja K, Rengganis I. *Imunologi Dasar*. Edisi ke-8. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2009.
  81. WHO. *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine.*; 2000. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66783/1/WHO\\_EDM\\_TRM\\_2000.1.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66783/1/WHO_EDM_TRM_2000.1.pdf) (Accessed 09.09.2016)
  82. PT. Japfa Comfeed Indonesia. *Broiler Management Program.*; 2008.
  83. Nefertiti EP. Pengaruh Pemberian Jus Alpukat (*Persea americana*) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol. *Fak Kedokt Univ Hang Tuah*. Published online 2014.
  84. Wulandari, Erni. 2016. Efek Ekstrak Kulit Buah Rambutan Terhadap Kadar MDA dan SOD Tikus yang Dipapar Asap Rokok. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang
  85. Adwas A, Elsayed SI, Azab AE, Quwaydir FA. 2019. *Oxidative Stress and*

*Antioxidant Mechanisms in Human body. Sabratha: Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*

86. Harun Iriyanti, Susanto H, Rosidi A. 2017. Pemberian Tempe Menurunkan Kadar *Malondialdehyde* (MDAO dan Meningkatkan Aktivitas Enzim *Superoxide Dismutasi* (SOD) Pada Tikus dengan Aktivitas Fisik Tinggi. *Jurnal Gizi Pangan Universitas Dionegoro Semarang*.
87. Burlakova EB, Zhizhina GP, Gurevich SM, Fatkullina LD, Kozachenko AI, Nagler LG, Zavarykina TM, Kashcheev V. 2010. *Biomarkers of Oxidative Stress and Smoking in Cancer Patients*. Mumbai: *Journal of Cancer Research and Therapeutics*
88. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. 2018. *Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs*. *oncotarget*, 9(6): 7204-7218