

**PENGARUH PEMBERIAN JUS ALPUKAT (*Persea americana*
M.) TERHADAP KADAR SOD DAN *INTERLEUKIN-6* (IL-6)**

(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Wistar Yang di papar asap rokok)

TESIS

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



Magister Ilmu Biomedik

Sopia Shinta

MBK.2016010218

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

TESIS
PENGARUH PEMBERIAN JUS APLUKAT (*Persea americana*
M.) TERHADAP KADAR SOD DAN *INTERLEUKIN-6* (IL-6)
(Studi Eksperimental Pada Tikus *Wistar* Jantan Yang Diberi Paparan Asap
Rokok)

disusun oleh

Sopia Shinta
MBK.20.16010218

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

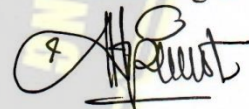
Telah disetujui Oleh :

Pembimbing I



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo. M.Kes
NIK. 210198046

Pembimbing II



Dr. Siti Thomas Zulaikhah. SKM.M.Kes
NIK. 210109119

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 keMagisteran di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



Semarang, September 2022



Sopia Shinta

RIWAYAT HIDUP

1. Identitas Diri

Nama : Sopia Shinta
Tempat / tanggal lahir : Sambas, 13 Juli 1996
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

2. Riwayat Pendidikan Formal

1. TK Bhineka Tunggal Ika : Lulus tahun 2003
2. SDN 04 Nagur : Lulus tahun 2009
3. SMPN 02 Sambas : Lulus tahun 2012
4. SMAN 01 Sambas : Lulus tahun 2015
5. D4 Analisis Kesehatan USB Surakarta : Lulus tahun 2019
6. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA : 2020- sekarang

3. Riwayat Keluarga

Nama Orang Tua
Ibu : Laila
Ayah : Muslim
Nama Saudara Kandung
Saudara 1: Adi Mulyadi
Saudara 2: Hendri
Adik : Soniya

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan yang Maha Esa, atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga tesis dengan judul “*Pengaruh Pemberian Jus Alpukat Persea americana, M. Terhadap Kadar SOD dan Kadar Interleukin-6 pada Tikus Wistar Jantan yang diberi paparan asap rokok* “ 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, Prof. Dr. Gunarto, SH, MHum
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr.H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med
4. Bapak Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Ibu Dr. Siti Thomas Zulaikhah, SKM,M.Kes selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Bapak Dr. Drs. Israhnanto Isradji, M.Si selaku penguji pertama yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
7. Bapak Dr.dr.Hadi Sarosa, M.Kes selaku penguji kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
8. Ibu Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes selaku penguji ketiga yang telah

memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.

9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
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 proposal 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.

Wassalamua'laikum warohmatullahi wabarakatuh

Semarang, September 2022

Sopia Shinta

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD).....	7
2.1.1. Definisi.....	7
2.1.2. Mekanisme Kerja SOD.....	7
2.1.3. Jenis-Jenis SOD	9
2.1.4. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar SOD	9
2.2. <i>Interleukin-6</i> (IL-6).....	11
2.2.1. Peran atau fungsi <i>interleukin-6</i>	12

2.2.2.	Mekanisme kerja molekuler <i>Interleukin-6</i>	13
2.2.3.	Faktor – faktor yang mempengaruhi kadar <i>Interleukin-6</i>	14
2.2.4.	Alat ukur <i>interleukin-6</i>	15
2.2.5.	Hubungan asap rokok dengan <i>interleukin-6</i>	15
2.3.	Buah Alpukat	16
2.3.1.	Buah Alpukat Sebagai Antioksidan	16
2.3.2.	Taksonomi Alpukat.....	17
2.3.3.	Kandungan Kimia dan Khasiat Alpukat	18
2.3.4.	Aktivitas Antioksidan Buah Alpukat	20
2.4.	Asap Rokok	20
2.4.1.	Definisi.....	20
2.4.2.	Kandungan Kimia Rokok	21
2.4.3.	Radikal Bebas	23
2.4.4.	Stres Oksidatif.....	24
2.5.	Pengaruh Pemberian Jus Alpukat terhadap Kadar SOD dan Kadar <i>Interleukin-6</i> Paparan Asap Rokok.....	25
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS		
PENELITIAN		27
3.1.	Kerangka Teori	27
3.2.	Kerangka Konsep	30
3.3.	Hipotesis	30
BAB IV METODE PENELITIAN		31
4.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	31
4.2.	Variabel dan Definisi Operasional.....	31
4.2.1.	Variabel Bebas	31
4.2.2.	Variabel Tergantung	31
4.2.3.	Variabel Prakondisi.....	31
4.3.	Definisi Operasional	31
4.3.1.	Variabel Bebas	31
4.3.2.	Variabel Tergantung	32
4.3.3.	Variabel Prakondisi.....	33

4.4. Materi Penelitian.....	33
4.4.1. Karakteristik Bahan	33
4.4.2. Karakteristik Hewan Coba.....	34
4.5. Instrumen dan Bahan Penelitian	35
4.5.1. Alat Penelitian.....	35
4.5.2. Hewan Coba.....	36
4.6. Cara Penelitian dan Alur Kerja.....	36
4.6.1. Proses Pengolahan Buah Alpukat	36
4.6.2. Persiapan Asap Rokok.....	37
4.6.3. Persiapan Hewan Coba	37
4.6.4. Penentuan aktivitas antioksidan.....	38
4.6.5. Alur Penelitian	38
4.6.6. Prosedur Pengambilan Sampel Darah.....	39
4.6.7. Prosedur Pemeriksaan <i>Superoksida Dismustase</i>	39
4.6.8. Prosedur Pemeriksaan Kadar Interleukin-6 (IL-6)	40
4.7. Alur Penelitian.....	42
4.8. Analisis Data.....	43
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	44
5.1. Hasil Penelitian.....	44
5.1.1. Kadar SOD (<i>Superoxide Dismustase</i>)	45
5.1.2. Hasil Kadar IL-6 (<i>Interleukin-6</i>).....	45
5.2. Pembahasan	48
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	51
6.1. Kesimpulan.....	51
6.2. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 2.1.	Komposisi kimiawi buah alpukat dalam 100 gram daging buah ³⁸ ..	18
Tabel 2.2.	Konsituen Fitokimia Daun, Buah, dan Biji <i>Persea Americana</i>	19
Tabel 5.1.	Hasil Pengukuran kadar SOD (%) dan IL-6 (pg/ml)	45
Tabel 5.2.	Hasil Analisis Kadar SOD dengan Uji <i>Pos Hoc Tukey</i>	46
Tabel 5.3.	Hasil Analisis Kadar IL-6 dengan Uji <i>Pos Hoc Tukey</i>	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Mekanisme Kerja SOD ¹⁸	8
Gambar 2.2.	Buah alpukat ⁴⁷	17
Gambar 3.1.	Kerangka Teori	29
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	30
Gambar 4.1.	Alur Penelitian	42



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 Laporan Hasil Uji	58
LAMPIRAN 2 Statistik Deskriptif, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji One Way ANOVA.....	60
LAMPIRAN 3 DOKUMENTASI PENELITIAN	66
LAMPIRAN 4 Laporan Hasil Uji Buah Alpukat.....	68
LAMPIRAN 5 Ethical Clearance.....	69
LAMPIRAN 6 Surat Keterangan Penelitian	70
LAMPIRAN 7 Surat Keterangan Bebas LAB	71



ABSTRAK

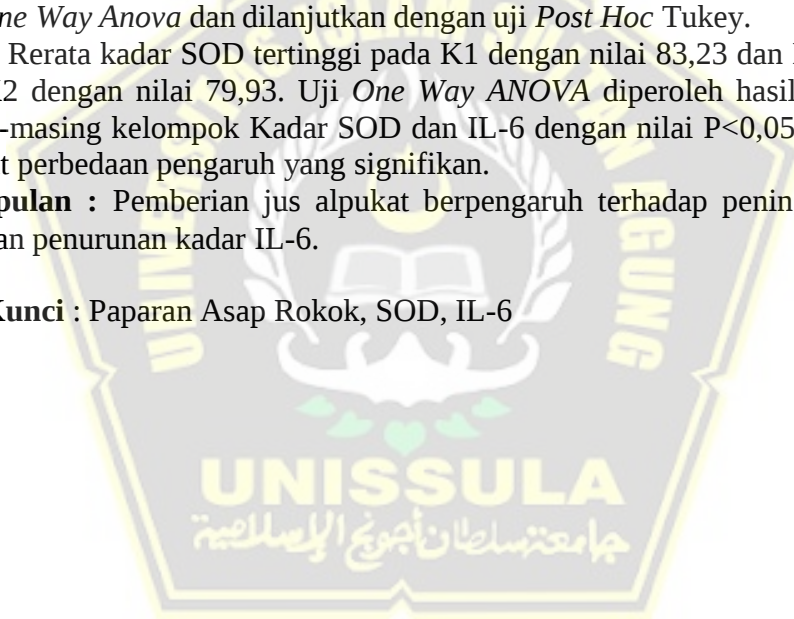
Latar Belakang : Asap rokok mengandung oksidan atau radikal bebas dan sekitar 4700 bahan kimia berbahaya. Tingginya radikal bebas di dalam tubuh memicu munculnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengakibatkan stress oksidatif, hal ini dapat terjadi apabila terdapat ketidak seimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan. Dalam proses ini terjadi kebocoran O_2 yang akan berubah menjadi radikal superoksida ($*O_2$) yang dapat membentuk sitokin proinflamasi seperti IL-6. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar SOD dan kadar IL-6 pada tikus wistar jantan yang dipapar asap rokok.

Metode : Penelitian ini menggunakan *Post Test Only Control Group Design*. Sampel diambil dari 20 ekor tikus jantan yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok secara acak yaitu K1, K2, K3, dan K4. K3 diberikan pakan standar ditambah pemberian jus alpukat dosis 2,7 gram /hari. Sedangkan kelompok K4 diberikan pakan standar ditambah jus alpukat dosis 5,4 gram/hari. Namun keduanya diberi paparan asap rokok selama 14 hari. Pada hari ke-15, tikus wistar jantan diambil darahnya untuk melakukan pemeriksaan enzim SOD menggunakan spektrofometri dan IL-6 menggunakan ELISA. Data dianalisis menggunakan uji beda *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* Tukey.

Hasil : Rerata kadar SOD tertinggi pada K1 dengan nilai 83,23 dan IL-6 tertinggi pada K2 dengan nilai 79,93. Uji *One Way ANOVA* diperoleh hasil bahwa pada masing-masing kelompok Kadar SOD dan IL-6 dengan nilai $P < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan.

Kesimpulan : Pemberian jus alpukat berpengaruh terhadap peningkatan kadar SOD dan penurunan kadar IL-6.

Kata Kunci : Paparan Asap Rokok, SOD, IL-6



**EFFECT OF AVOCADO JUICE ADMINISTRATION (*Persea americana* M.)
AGAINST SOD AND INTERLEUKIN-6 (IL-6) LEVELS
(Experimental Study on Wistar Male Rats Exposed to Cigarette Smoke)**

ABSTRACT

Background : Cigarette smoke contains oxidants or free radicals and about 4700 harmful chemicals. The high level of free radicals in the body triggers the emergence of Reactive Oxygen Species (ROS) which results in oxidative stress, this can occur if there is an imbalance between the amount of oxidants and antioxidants. In this process there is an O₂ leak that will turn into a superoxide radical (*O₂) that can form pro-inflammatory cytokines such as IL-6. The purpose is the research is to determine the effect of avocado juice administration on SOD levels and IL-6 levels in male wistar rats exposed to cigarette smoke.

Method : This study uses Post Test Only Control Group Design. Samples were taken from 20 male rats that entered the inclusion criteria divided into 4 random groups, namely K1, K2, K3, and K4. K3 is given standard feed plus avocado juice at a dose of 2.7 grams /day. Meanwhile, the K4 group was given standard feed plus avocado juice at a dose of 5.4 grams / day. But both were given 14 days of exposure to cigarette smoke. On the 15th day, male wistar rats were drawn blood to perform an examination of the SOD using spectrophotometry and IL-6 using ELISA. The data were analyzed using the One Way Anova different test and continued with the Post Hoc Tukey test.

Results: The average SOD levels were highest in the K1 with a value 83,23 and IL-6 the average levels were highest in the K2 with a value 79,93. The One Way ANOVA test obtained results that in each group SOD and IL-6 levels with a value of $P < 0.05$, which means that there are significant differences in influence.

Conclusion : Giving avocado juice has an effect on increasing levels of SOD and decreasing levels of IL-6.

Keywords : Cigarette Smoke Exposure, SOD, IL-6

DAFTAR SINGKATAN

BB	: Berat Badan
CO ₂	: <i>Karbon dioksida</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPPH	: <i>A-Diphenyl-B-Picrilhydrazyl</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hydrogen Peroxide</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-10	: <i>Interleukin-10</i>
IL- β	: <i>Interleukin-1β</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
NADPH	: <i>Nikotinamida Adenin Dinukleotida Fosfat</i>
O ₂	: <i>Oksigen</i>
OH-	: <i>Hidroksil superoksida</i>
OOH-	: <i>Peroxyl Radikal</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Merokok merupakan salah satu kebiasaan gaya hidup yang mempengaruhi kesehatan pada manusia. Asap rokok mengandung sekitar 10^{15} - 10^{17} oksidan atau radikal bebas dan sekitar 4700 bahan kimia berbahaya termasuk aldehydes/carbonyls, NO_2 , dan SO_2 .¹ Tingginya radikal bebas di dalam tubuh memicu munculnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengakibatkan stress oksidatif, hal ini dapat terjadi apabila terdapat ketidakseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan. Antioksidan yang berperan sebagai sistem pertahanan pertama terhadap senyawa radikal bebas adalah *Superoxide Dismutase* (SOD). *Superoxide Dismutase* (SOD) merupakan antioksidan enzim pertama dalam mekanisme pertahanan terhadap *anion superoxide*.²

Radikal bebas didalam tubuh manusia merupakan hasil dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, peradangan, paparan polusi (asap kendaraan, asap rokok dsb).¹ Radikal bebas didalam tubuh akan bereaksi dengan molekul sel untuk memperoleh pasangan elektron sehingga menjadi lebih stabil, tetapi molekul sel tubuh yang diambil elektronnya akan berubah menjadi radikal bebas. Reaksi ini akan terus menerus bereaksi di dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan

peradangan, kerusakan DNA atau sel, dan menimbulkan berbagai penyakit degeneratif.²

Radikal bebas juga dapat dihasilkan pada proses inflamasi yaitu pada proses NADPH menjadi NADP dengan mengkatalasi NADPH oksidase. Dalam proses ini terjadi kebocoran O₂ yang akan berubah menjadi radikal superoksida (*O₂) yang dapat membentuk sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6.² *Interleukin-6* (IL-6) merupakan salah satu kelompok sitokin pro-inflamasi yang digunakan sebagai indikator menilai tingkat inflamasi. Asap rokok mengandung radikal bebas dalam jumlah besar yang dapat menimbulkan kelaianan struktur jaringan yang berkaitan dengan respon inflamasi.³ Hal ini terjadi karena kandungan dari asap rokok yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang memicu produksi sitokin pro-inflamasi seperti *interleukin-6* (IL-6).

Penelitian di Taiwan menyatakan bahwa kadar SOD perokok relatif lebih rendah dibandingkan non perokok.⁴ Penurunan konsentrasi SOD dihubungkan dengan kemampuan ROS mengoksidasi protein, termasuk enzim sehingga menyebabkan hilangnya aktivitas enzimatik dan fungsi SOD.⁵ Beberapa penelitian melaporkan bahwa perilaku merokok dapat meningkatkan kadar *inteleukin-6* dalam serum.⁶ Penelitian lainnya menyatakan bahwa terdapat hubungan antara peningkatan kadar IL-6 serum pada perokok dan tidak perokok, dimana stress oksidatif yang dihasilkan asap rokok akan merangsang pengeluaran sitokin pro-inflamasi seperti IL-6.³ Penelitian ini tidak sama dengan penelitian terdahulu yang menyatakan tidak

terdapat perbedaan yang signifikan rerata kadar serum IL-6 antara kelompok perokok dan tidak perokok.⁶

Alpukat merupakan salah satu jenis buah yang diperkaya zat gizi dan antioksidan. Buah alpukat banyak mengandung antioksidan seperti flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin. Selain itu juga mengandung senyawa lain yang bermanfaat bagi tubuh seperti karotenoid, *Monounsaturated Fatty Acid* (MUFA), mineral, protein, vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin E yang mampu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS.⁷ Kandungan flavonoid pada buah alpukat dapat menangkap ROS, menghambat kerja enzim yang menghasilkan ROS sehingga kerusakan DNA atau sel dapat dicegah serta stress oksidatif tidak terjadi lagi.² Penelitian terdahulu menyatakan ekstrak biji alpukat memiliki potensi bila digunakan sebagai agen anti inflamasi.⁸

Penelitian tentang pengaruh pemberian jus alpukat terhadap petanda antioksidan enzimatik dan inflamasi pada paparan asap rokok belum banyak dilakukan, sehingga perlu dilakukan dengan mengukur kadar SOD dan kadar IL-6 sebagai petanda antioksidan enzimatik dan inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar SOD dan kadar IL-6 pada tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok.

1.2. Perumusan Masalah

Adakah pengaruh jus alpukat terhadap kadar SOD dan kadar *Interleukin-6* (IL-6) pada tikus wistar jantan yang di papar asap rokok?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar SOD dan kadar *Interleukin-6* (IL-6) pada tikus wistar jantan yang dipapar asap rokok.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar SOD pada tikus wistar jantan yang di beri paparan asap rokok.
- b. Mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* M.) terhadap kadar *Interleukin-6* (IL-6) pada tikus wistar jantan yang di beri paparan asap rokok.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengetahuan pengembangan ilmu mengenai pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar SOD dan *interleukin-6* pada tikus wistar jantan yang di papar asap rokok.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sarana yang bermanfaat dalam mengimplementasikan pemanfaatan pemberian jus alpukat

sebagai asupan tambahan dalam meningkatkan antioksidan dan sistem imunitas bagi kesehatan tubuh.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Penelitian publikasi, Tahun	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1	Kadek Ika Surya Cahyani, I Gusti Agung Dewi Sarihati, Ida Ayu Made Sri Arjani, Surya Bayu Kurniawan, Heri Setiyo Bakti. Jurnal Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Denpasar, Vol 8. No. 2 Desember 2022	Gambaran kadar serum <i>interleukin-6</i> pada perokok aktif	Penelitian Deskriptif, Teknik Sampling <i>purposive sampling</i> .	Terdapat kadar serum interleukin-6 meningkat pada perokok aktif
2	Inggita Kusumastuty, Prasetyo Adi, Leny Budhi H , Fajar Ari N. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol 28. No. 3, Februari 2015	Pengaruh daun ubi jalar ungu terhadap kadar TNF-A, IL-6, dan Nf-Kb pada tikus yang di papar asap rokok	Eksperimental dengan rancangan <i>post test only group design</i> .	Tepung PSPL dapat menurunkan produksi sitokin pro inflamasi TNF- α , IL-6, NF-Kb.
3	Izzatun Nufus, Lisdiana, Aditya Marianti, Endah Peniati. Life Science e-journal. 2020	Pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar MDA dan SOD pada darah tikus	Eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian <i>the post test only group</i> .	Nikotin dalam rokok memberikan pengaruh terhadap proses biokimiawi darah akibat stress oksidatif dan berpengaruh perubahan kadar MDA dan SOD yaitu terjadinya peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, karena pada penelitian akan dilakukan dengan variabel, jumlah sampel, dan lokasi penelitian yang berbeda. Selain itu, pada penelitian ini juga akan menganalisis pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea*

Americana M.) terhadap kadar SOD dan kadar IL-6 (*interleukin-6*) terhadap tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Superoxide Dismutase (SOD)*

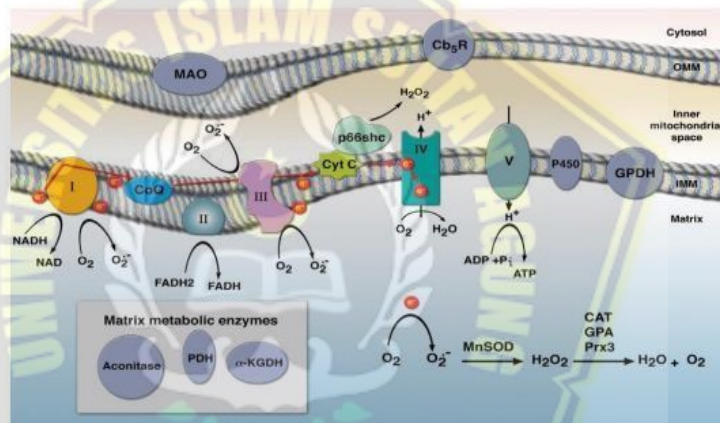
2.1.1. Definisi

Superoxide Dismutase (SOD) adalah *metalloenzymes* yang mengandung atom tembaga, seng atau besi yang dibentuk dalam sitosol dan yang mengandung mangan dibentuk didalam matrik mitokondria.⁹ SOD merupakan enzim yang berfungsi untuk katalisator dari reaksi *dismutase* radikal bebas *anion superoksida* (O_2^-) menjadi *hidrogen peroksida* (H_2O_2) dan diubah menjadi molekul air oleh *glutathione peroksidase* dan enzim *catalase*.¹⁰ SOD merupakan enzim antioksidan yang mempunyai efek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh pertama dalam menghadapi radikal bebas.¹¹ Enzim SOD dapat ditemukan di sel darah merah, ginjal, hati, otak, testis, otot jantung, pankreas dan paru-paru.¹²

2.1.2. Mekanisme Kerja SOD

SOD merupakan antioksidan endogen yang dapat menghambat stres oksidatif. SOD terdapat dalam sitosol dan mitokondria yang akan mengubah radikal *superoksida* (O_2^-) reaktif menjadi *hidrogen peroksida* (H_2O_2).¹³ Peroksida dikatalisis oleh enzim *catalase* (CAT) dan *glutathione peroksidase* (GPx).¹⁴ Enzim CAT mengubah 2 molekul H_2O_2 menjadi 2 H_2O dan O_2 .¹⁵ Enzim GPx dalam eritrosit

dan jaringan lain mengkatalisis destruksi H_2O_2 dan lipid hidroperoksida dengan menggunakan *glutathione tereduksi* (GSH), melindungi lipid membran dan hemoglobin dari serangan oksidasi oleh H_2O_2 , sehingga mencegah terjadinya hemolisis yang disebabkan oleh serangan peroksida. GSH akan dioksidasi menjadi *glutathione teroksidasi* (GS-SG). GS-SG harus direduksi kembali menjadi GSH oleh enzim *glutathione reduktase* (Gred) agar tersedia untuk kerja enzim GPx. H_2O_2 yang tidak dikonversi menjadi H_2O akan membentuk radikal *hidroksil* ($\text{OH}^\cdot$) reaktif.¹⁶



Gambar 2.1. Mekanisme Kerja SOD¹³

Dalam gambar di atas terlihat $\text{O}_2^\cdot$ (radikal superoksida) yang dihasilkan dalam perubahan NADH menjadi NAD, PADH2 menjadi PADH dirubah menjadi H_2O_2 oleh MnSOD dan selanjutnya produk H_2O_2 dirubah menjadi H_2O dan O_2 oleh Katalase.

2.1.3. Jenis-Jenis SOD

a. Cu, Zn SOD

Copper Zinc Superoxide dismutase adalah protein dimerik dengan dua subunit yang identik diikat secara non kovalen. Cu, Zn SOD berperan penting sebagai sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Terletak dalam sitoplasma dan organel dengan ukuran 32.000 kDA.

b. Mn SOD

Bekerja sebagai antioksidan utama dalam menghambat kerja *Superoxide Dismutase* di dalam mitokondria. Mn SOD berukuran 40.000 kDA yang terdiri dari 4 subunit dengan atom mangan. Tipe ini disintesis terbanyak di cairan ekstra seluler oleh beberapa sel saja, contohnya sel endotel dan fibroblast.

c. Fe SOD

Enzim yang banyak ditemukan pada prokariot, tumbuhan dan bakteri. Terdiri dari tiga ion besi yang berikatan dengan tiga histidin, satu aspartat, dan satu molekul air.

2.1.4. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar SOD

a. Usia

Stres oksidatif dipengaruhi oleh usia penderita (>50 tahun). Usia yang semakin tua akan mengalami kerusakan sel sehingga meningkatkan kadar radikal bebas. Radikal bebas sangat reaktif

menekan status antioksidan dan sistem imun sehingga terjadi penurunan aktivitas SOD pada lansia.¹⁷

b. Obesitas

Obesitas menyebabkan peningkatan pengiriman glukosa ke jaringan adiposa yang semakin meluas dapat menimbulkan hipoksia. Hipoksia kronik dapat meningkatkan stres oksidatif tanpa mengompensasi antioksidan melalui jalur *xantin oksidase* sehingga menekan kerja SOD.¹⁸

c. Paparan Radikal Bebas

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kadar antioksidan didalam tubuh. Contoh paparan radikal bebas yakni; *alcohol*, rokok, sinar radiasi dan lainnya. Semakin tinggi kadar radikal bebas dalam tubuh maka akan terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan didalam tubuh, termasuk salah satunya *superoksida dismutase*¹⁹.

d. Asap Rokok

Kandungan asap rokok merupakan sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogen). Mekanisme alami tubuh dalam mengatasi radikal bebas adalah dengan mengeluarkan antioksidan endogen berupa enzim yang letaknya tersebar dalam jaringan tubuh. Enzim antioksidan lini pertama dalam upaya perlindungan akibat radikal bebas adalah *Superodixe Dismutase* (SOD).²⁰

e. Aktivitas Fisik

Kadar SOD lebih tinggi pada saat istirahat dan aktivitas teratur daripada aktivitas berat. Latihan aerobik dan anaerobic berlebihan dapat menyebabkan kontraktilitas otot terganggu sehingga menimbulkan stres oksidatif dan menghasilkan ROS yang dapat merusak jaringan.²¹

2.2. Interleukin-6 (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) termasuk dalam salah satu kelompok sitokin pro inflamasi sehingga sitokin ini dapat dijadikan sebagai indikator untuk menilai tingkat inflamasi yang dialami oleh sel endotel pembuluh darah.²² Selain itu, *interleukin-6* (IL-6) juga merupakan sitokin *pleiotropic* yang berfungsi untuk mengatur pertumbuhan sel, interaksi antar sel, serta memicu reaktivitas imun spesifik maupun non spesifik. *Interleukin-6* disekresikan oleh sel T, makrofag, osteoblast, pembuluh darah, sel endotel dan sel otot polos untuk merangsang system kekebalan tubuh.²³ Selain itu, IL-6 juga mempengaruhi tindakan beragam seluler, termasuk faktor metabolisme, efek pada trombosit, dan faktor koagulasi. IL-6 berperan penting dalam proses plak aterosklerotik dan kadar IL-6 meningkat pada peristiwa ini.⁶ IL-6 beredar dalam bentuk *multiple glycosylated* dengan ukuran bervariasi 22-27 kDa.²⁴

Nilai normal kadar serum interleukin-6 (IL-6) adalah < 4 pg/ml. apabila kadar interleukin-6 dalam serum > 4 pg/ml dapat dikatakan meningkat. Meningkatnya kadar IL-6 menandakan terjadinya suatu proses inflamasi.

Efek IL-6 dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya proses inflamasi dan peningkatan produksi leukosit.²⁵

2.2.1. Peran atau fungsi *interleukin-6*

Limfosit T helper dibagi menjadi Th1 yang menghasilkan sitokin proinflamasi *interferon- γ* (IFN- γ), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *tumor necrosis factor- β* (TNF- β), *interleukin-1*, *interleukin-6*, *interleukin-8*, *interleukin-12* yang berfungsi mengaktifkan sistem imun seluler dan sistem imun non spesifik. Th2 menghasilkan sitokin anti inflamasi yaitu *interleukin-4* dan *interleukin-10* yang mengaktifkan sistem imun humoral.²⁶

Sitokin IL-6 berfungsi sebagai pro inflamasi dan anti inflamasi yang disekresikan oleh sel T dan makrofag. Sitokin *interleukin-6* (IL-6) berperan dalam merangsang respon sistem kekebalan tubuh terhadap mikroba tertentu seperti *Mycobacterium leprae* melalui *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) yang kemudian akan mengikat *pattern recognition receptors* (PRRs) dan *Toll-like receptors* (TLRs).²³ Sitokin *interleukin-6* merangsang hepatosit untuk memproduksi *acute phase protein* (APP) dan *cerebro spinal fluid* (CPS) untuk merangsang progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi *neutrophil*. selain itu, *interleukin-6* juga merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang akan memproduksi antibodi pada sistem imun spesifik. *Interleukin-6* merupakan *growth factor* (GF) sel plasma neoplastik (*myeloma*).

2.2.2. Mekanisme kerja molekuler *Interleukin-6*

Interleukin-6 (IL-6) memiliki berat molekul antara 21-28 kD, tergantung dari proses berlangsung seperti glikosilasi dan fosforilasi. Melalui proses ini maka aktivitas biologi *interleukin-6* dan kehadirannya di jaringan yang spesifik bisa terjadi. Peptide *interleukin-6* terdiri dari 212 asam amino dengan gen yang terletak pada kromosom 7p21 dengan jumlah 5 ekson dan 4 intron. *Interleukin-6* disekresikan oleh berbagai protein heterogen dengan berat molekul 19-70 kD, dengan bentuk isoform yang dominan berkisar antara 23-30 kD. Polipeptida *interleukin-6* berikatan dengan protein pembawa yang berbeda contohnya albumin dan soluble *interleukin-6* reseptor.²⁷

Interleukin-6 memiliki 2 molekul *transmembrane*, yaitu *interleukin-6R* dan *signal transducing subunit*. Peran pleiotropik *interleukin-6* sebagai agen pro inflamasi dan anti inflamasi yang berkaitan dengan *interleukin-6R*. *interleukin-6* diregulasi dan diekspresikan dengan jumlah yang sedikit, kecuali pada kondisi infeksi dan kondisi trauma. Peran proinflamasi *interleukin-6* terjadi pada proses kronis, seperti penyakit-penyakit autoimun, contohnya; lupus, kusta, *rheumatoid arthritis*. Peningkatan kadar *interleukin-6* terjadi pada kondisi infeksi akut bakteri, peradangan kronis, kondisi bakterimia.²⁷

2.2.3. Faktor – faktor yang mempengaruhi kadar Interleukin-6

2.2.3.1. Usia

Kadar interleukin-6 dapat meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Pada usia 65-74 tahun kadar IL-6 rata – rata adalah 1,4 pg/ml pada laki-laki dan pada wanita adalah 1,1 pg/ml. pada usia > 85 tahun, kadar IL-6 rata-rata adalah 3,5 pg/ml pada laki-laki dan pada wanita adalah 2,1 pg/ml. Peningkatan kadar IL-6 yang terkait usia diakibatkan oleh stimulasi produksi IL-6 yang terkait dengan peningkatan jumlah radikal bebas didalam tubuh. Penyebab lainnya adalah gangguan regulasi normal pada ekspresi gen yang mengatur produksi IL-6.²⁸

2.2.3.2. Merokok

Merokok dapat memicu *interleukin-6* oleh leukosit. *Interleukin-6* memiliki peran penting dalam proses sintesis CRP dan protein fase akut lainnya oleh hepar. Sitokin IL-6 berbeda dengan sitokin lainnya karena sebagian besar sitokin IL-6 berada di dalam sirkulasi.²⁵

2.2.3.3. Diabetes Melitus

IL-6 mempengaruhi proses metabolisme glukosa dalam tubuh dengan menyebabkan peningkatan glukosa basal dan mengubah sensitivitas insulin.²⁹

2.2.3.4. Penyakit jantung

IL-6 berperan dalam proses patogenesis penyakit jantung coroner dan berhubungan dengan *aterosklerosis*. Pada kadar IL-6 yang tinggi berhubungan dengan mortalitas pada pasien sindrom koroner akut.²⁹

2.2.4. Alat ukur *interleukin-6*

Pengukuran kadar *interleukin-6* dapat menggunakan *enzyme linked immune sorbent assay* (ELISA) dengan kadar normal <11 pg/ml. Metode ELISA (*enzyme linked immune sorbent assay*) merupakan suatu teknik biokimia yang banyak digunakan dibidang imunologi yang berfungsi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen.

2.2.5. Hubungan asap rokok dengan *interleukin-6*

Asap rokok mengandung radikal bebas dan mengandung sekitar 4700 bahan kimia yang berbahaya.¹ Paparan asap rokok berkaitan dengan kerusakan jaringan, peningkatan stress oksidatif, peningkatan produk produksi lipid, berkurangnya kadar antioksidan, dan resiko peningkatan beberapa penyakit kronis. Hal ini disebabkan karena komposisi pada asap rokok seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *fenol-rich glycoprotein* yang memberi stimulasi secara langsung pada makrofag, memicu produksi sitokin baik paparan akut maupun paparan kronik.³⁰

Kerusakan jaringan akibat asap rokok dapat memicu pelepasan mediator inflamasi seperti sitokin. Mediator inflamasi seperti IL-6, IL-1,

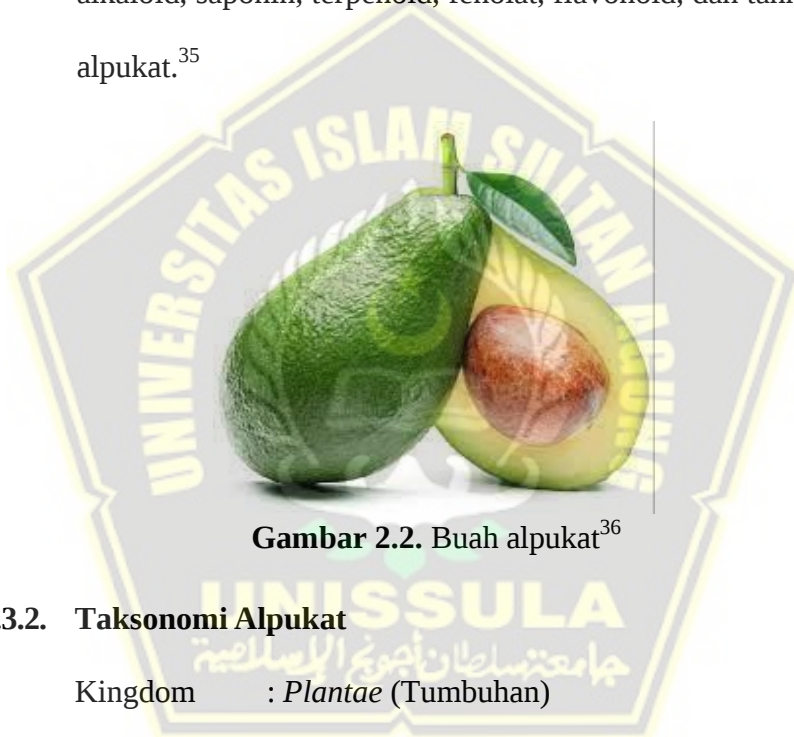
dan TNF- α yang meningkatkan aktivasi leukosit. Sitokin dilepaskan oleh leukosit sebagai respon awal adanya kerusakan jaringan. Selanjutnya sitokin memperantarai serangkaian proses inflamasi dan sistem imunitas. Sitokin merupakan suatu glikoprotein yang berasal dari sel T helper, sel *natural killer* (NK), dan makrofag yang berperan penting pada respon tubuh. Sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α dapat mempengaruhi fungsi dan sintesis dari sitokin lain melalui jaringan sitokin kompleks.³¹ Paparan asap rokok dapat memicu produksi sitokin IL-6 oleh leukosit. IL-6 berperan dalam proses CRP dan protein fase akut lainnya oleh hepar.

2.3. Buah Alpukat

2.3.1. Buah Alpukat Sebagai Antioksidan

Radikal bebas adalah suatu molekul yang memiliki satu atau lebih dari elektron yang tidak berpasangan. Elektron – elektron tersebut akan menyebabkan radikal bebas menjadi suatu senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel. Reaksi ini disebut sebagai oksidasi. Pengaruh radikal bebas ini dapat dapat dinetralisirkan oleh senyawa antioksidan. Antioksidan dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh ROS. Baru-baru ini ada bukti yang menyebutkan bahwa antioksidan alami dapat mencegah terjadinya ROS. Antioksidan alami terkandung dalam tanaman obat, buah, dan sayuran.³²

Buah alpukat (*Persea americana M.*) memiliki kandungan senyawa antioksidan dan kandungan gizi yang tinggi baik dimakan secara langsung maupun dijus.³³ Buah alpukat memiliki komposisi persen minyak yang sama dengan minyak zaitun, protein, Fe, mineral Ca, dan banyak mengandung antioksidan.³⁴ Buah alpukat juga terkandung molekul bioaktif yang melindungi sel-sel tubuh manusia terhadap radikal bebas. Analisis fitokimia juga menunjukkan adanya alkaloid, saponin, terpenoid, fenolat, flavonoid, dan tannin pada buah alpukat.³⁵



Gambar 2.2. Buah alpukat³⁶

2.3.2. Taksonomi Alpukat

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)

Subkingdom : *Tracheobionta* (Tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi s : *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*

(Sumber : United States Departement of Agriculture³⁷)

2.3.3. Kandungan Kimia dan Khasiat Alpukat

Buah alpukat memiliki kandungan senyawa yang penting bagi tubuh manusia, diantaranya yaitu :

Tabel 2.1. Komposisi kimiawi buah alpukat dalam 100 gram daging buah³⁸

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

Tabel 2.2. Konsituen Fitokimia Daun, Buah, dan Biji *Persea americana*³⁹

Komposisi	Daun (mg/100g)	Buah (mg/100g)	Biji (mg/100g)
Saponin	1.29±0.08	0.14±0.01	19.21±2.81
Tanin	0.68±0.06	0.12±0.03	0.24±0.12
Flavonoid	8.11±0.14	4.25±0.16	1.90±0.07
Sianogenik Glikosida	ND	ND	0.06±0.02
Alkaloid	0.51±0.21	0.14±0.00	0.72±0.12
Fenol	3.41±0.64	2.94±0.13	6.14±1.28
Steroids	1.21±0.14	1.88±0.19	0.09±0.00

Buah alpukat memiliki kandungan vitamin B kompleks, vitamin A, vitamin C, vitamin E, disamping lemak, protein, karbohidrat, mineral, tannin, dan senyawa-senyawa lain. Campuran vitamin A dan E pada buah alpukat berfungsi untuk perawatan kulit. Kandungan potassium pada buah alpukat dapat mengurangi tekanan darah dan mengurangi depresi. Asam oleat pada buah alpukat merupakan antioksidan yang kuat dalam menangkap radikal bebas.⁴⁰

Kandungan vitamin C merupakan senyawa antioksidan yang larut dalam air. Vitamin C adalah agen reduktor, senyawa vitamin C berfungsi mencegah senyawa lain mengalami oksidasi atau secara ilmiah senyawa vitamin C mengalami oksidasi sendiri.³⁴

Kandungan flavonoid dalam buah alpukat memiliki aktivitas kuat terhadap antioksidan sehingga mampu melindungi dari toksik atau stress oksidatif disuatu organ tubuh dan mampu mencegah

terjadinya kerusakan sel, selain itu juga mampu berfungsi sebagai anti kanker.⁴¹

2.3.4. Aktivitas Antioksidan Buah Alpukat

Buah alpukat mengandung senyawa fenolik dan vitamin C. Senyawa-senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat redoksnya. Senyawa fenolik berperan sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga sebagai pengkelat logam yang potensial.⁴¹

Alpukat juga diperkaya antioksidan dan zat gizi. Pada buah alpukat itu memiliki kandungan flavonoid yang paling tinggi dibandingkan dengan buah- buahan tropis lainnya seperti buah jambu biji, buah nanas, buah mangga, buah pepaya, buah jeruk, dan asam jawa. Kandungan flavonoin pada buah alpukat digunakan sebagai antioksidan karena kemampuannya untuk mengurangi pembentukan radikal bebas.⁴⁰

2.4. Asap Rokok

2.4.1. Definisi

Asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas yang berasal dari eksogen, yang mengandung sekitar 4000 senyawa kimia, dimana Sebagian besar bersifat racun dan juga dapat merubah sel-sel tubuh menjadi sel ganas.⁴²

Berdasarkan Permenkes (NO 19 Tahun 2003), rokok merupakan hasil olahan tembakau yang dihasilkan oleh tanaman *Nicotiana*, *Nicotiana rustica* dan spesies lainnya yang mengandung nikotin, tar, karbon monoksida. Rokok menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang dapat mengakibatkan beberapa gangguan Kesehatan, salah satunya menyebabkan inflamasi.⁶ Stress oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Kondisi seperti ini akan meningkatkan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS adalah suatu agen pengoksidasi yang sangat reaktif yang termasuk kelas radikal bebas dan merupakan kelompok molekul kimia yang sangat reaktif.⁴³

Asap rokok yang dihirup seorang perokok mengandung komponen gas dan partikel. Komponen gas berpotensi menimbulkan radikal bebas (karbon monoksida, karbondioksida, hidrokarbon). Sedangkan komponen partikel mengandung tar, nikotin, fenol, dan benzopiren.

2.4.2. Kandungan Kimia Rokok

2.4.2.1. Nikotin

Nikotin adalah suatu senyawa *pirolidin* atau zat yang terdapat dalam *Nicotiana tobaccum*, *Nicotiana rustica* dan spesies lainnya yang bersifat adiktif yang dapat menyebabkan ketergantungan (PP RI No.19 tahun 2003). Nikotin menyebabkan ketagihan karena dapat memicu

dopamine yaitu unsur kimia dalam otak yang berhubungan dengan perasaan senang. Selain itu, nikotin memiliki efek immunosupresif dengan cara menghambat respon imun innate dan imun adaptive sehingga merokok dapat mempengaruhi kadar sitokin seperti *interleukin-6*, *TNF- α* . Sitokin IL-6 adalah sitokin yang berfungsi menstimulasi pertumbuhan antibodi yang dihasilkan oleh limfosit B.⁴⁴

2.4.2.2. Tar

Tar merupakan senyawa polinuklear hidrokarbon aromatika yang bersifat karsinogenik (PP RI No.19 tahun 2003). Tar terbentuk karena adanya proses pemanasan tembakau dan kadar tar pada asap rokok yang menyebabkan kanker.

2.4.2.3. Karbon Monoksida

Karbon monoksida terdapat pada rokok dengan kandungan 2-6%. Karbon monoksida adalah suatu senyawa gas yang tidak bewarna dan bersifat beracun sehingga menyebabkan darah kurang mampu untuk membawa oksigen, keadaan ini mengakibatkan kematian sel. Selain itu, dapat menyebabkan gangguan imunitas yang mengakibatkan peningkatan jumlah neutrophil, leukosit pada sistem perifer, serta inflamasi dalam tubuh.⁴⁵

2.4.2.4. Kandungan lain

Arsenic, ammonia, formic acid, acrolaein, hydrogen cyanide, nitrous oksida, formaldehyde, phenol, acetol, hydrogen sulfide, pyridine, methyl chloride, dan methanol. Merupakan bahan-bahan kimia dalam rokok yang menyebabkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu kerusakan sel dan jaringan melalui lipid peroksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan langsung sel meningkatkan respon inflamasi.⁴⁵

2.4.3. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbita terluarnya. Radikal bebas berasal dari dalam tubuh sendiri yang merupakan hasil dari metabolisme seluler, bisa berasal dari proses peradangan, dan dapat juga berasal dari luar tubuh (polusi, asap rokok, radiasi, obat-obatan).²¹ Radikal bebas bersifat menguntungkan karena dapat membantu proses perkembangan sel dan sebagai pertahanan tubuh dengan cara mendestruksi mikroorganisme patogen dalam jumlah yang kecil hingga sedang. Peningkatan jumlah radikal bebas merupakan sifat merugikan karena menyebabkan kerusakan pada lemak, protein, karbohidrat dan asam nukleat.⁴⁶

Bentuk umum radikal bebas ada dua yaitu *reactive oxygen spesies* ROS dan *reactive nitrogen spesies* (RNS). ROS diantaranya

hidroksil ($\text{OH}\bullet$), *superoksida* ($\text{O}_2\bullet^-$), *hydrogen peroxide* (H_2O_2), dan *peroxyl radikal* (OOH). Sementara RNS sering dianggap sebagai subklas dari ROS, di antaranya *nitric oxide* ($\text{NO}\bullet$), *nitrogen dioxide* ($\text{NO}_2\bullet$), *peroxynitrite* (NO_3^-), *nitroxyl anion* (HNO) dan *peroxynitrous acid* (HNO_3^-).⁴⁷ Proses terbentuknya ROS satu molekul direduksi menjadi dua molekul air. Reduksi tersebut dilakukan dengan menstransfer empat, tetapi transfer tersebut berlangsung empat tahapan. Hal ini terjadi karena dua yang tidak berpasangan pada molekul terletak pada orbit yang berbeda dan menunjukkan angka putaran yang berlawanan, maka oksigen hanya mampu menerima tahap demi tahap dan hanya satu tiap tahapnya. Pemindahan yang tidak sempurna tersebut mengakibatkan terbentuknya ROS.⁴⁸

2.4.4. Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kadar antioksidan. ROS diproduksi di dalam sel melalui rantai *transport* dan beberapa enzim seperti xanthin oksidase, aldehid oksidase, dan sitokrom P-450 monooksigenase. Stress oksidatif dalam tubuh mempunyai target kerusakan pada seluruh tipe biomolekul seperti protein, lipid dan DNA.⁴⁹

Stres oksidatif dapat terjadi akibat adanya ketidakseimbangan antara produksi *reactive oxygen species* (ROS) dengan pertahanan

antioksidan. Kondisi tersebut dipengaruhi oleh faktor internal seperti umur, oksidasi fosforilasi, proses patofisiologi dan faktor eksternal seperti olahraga berlebihan, asupan makanan, sinar ultraviolet dan bahan kimia.⁴⁷

2.5. Pengaruh Pemberian Jus Alpukat terhadap Kadar SOD dan Kadar Interleukin-6 Paparan Asap Rokok

Asap rokok adalah salah satu sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh.⁵⁰ Produk radikal bebas yang dihasilkan berbentuk spesies oksigen reaktif (ROS). ROS dalam konsentrasi rendah memberikan efek manfaat pada respon seluler dan fungsi kekebalan tubuh. ROS dalam konsentrasi tinggi menyebabkan stress oksidatif, sebuah proses yang dapat merusak semua struktur sel dan merangsang pengeluaran sitokin proinflamasi seperti *interleukin-6*.⁵¹ ROS dalam konsentrasi tinggi juga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dan merusak DNA.⁵²

Sistem biologis tubuh biasanya dapat memproduksi sendiri antioksidan yang berupa enzim seperti superoksida dismutase (SOD). Terjadi stress oksidatif karena produksi ROS berlebih maka antioksidan endogen ini harus mendapat tambahan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) yang berasal dari asupan makanan seperti buah buahan, salah satunya buah alpukat.²

Buah alpukat mengandung senyawa fenolik dan vitamin C. Senyawa-senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat redoksnya. Senyawa fenolik berperan sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga sebagai pengkelat logam yang

potensial.⁵³ Alpukat juga diperkaya antioksidan dan zat gizi. Pada buah alpukat itu memiliki kandungan flavonoid yang paling tinggi. Kandungan flavonoid pada buah alpukat digunakan sebagai antioksidan karena kemampuannya untuk mengurangi pembentukan radikal bebas.⁵⁴ Kandungan flavonoid pada buah alpukat dapat berfungsi sebagai anti inflamasi karena flavonoid dapat menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, IL- 1β dan interferon- γ .²



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

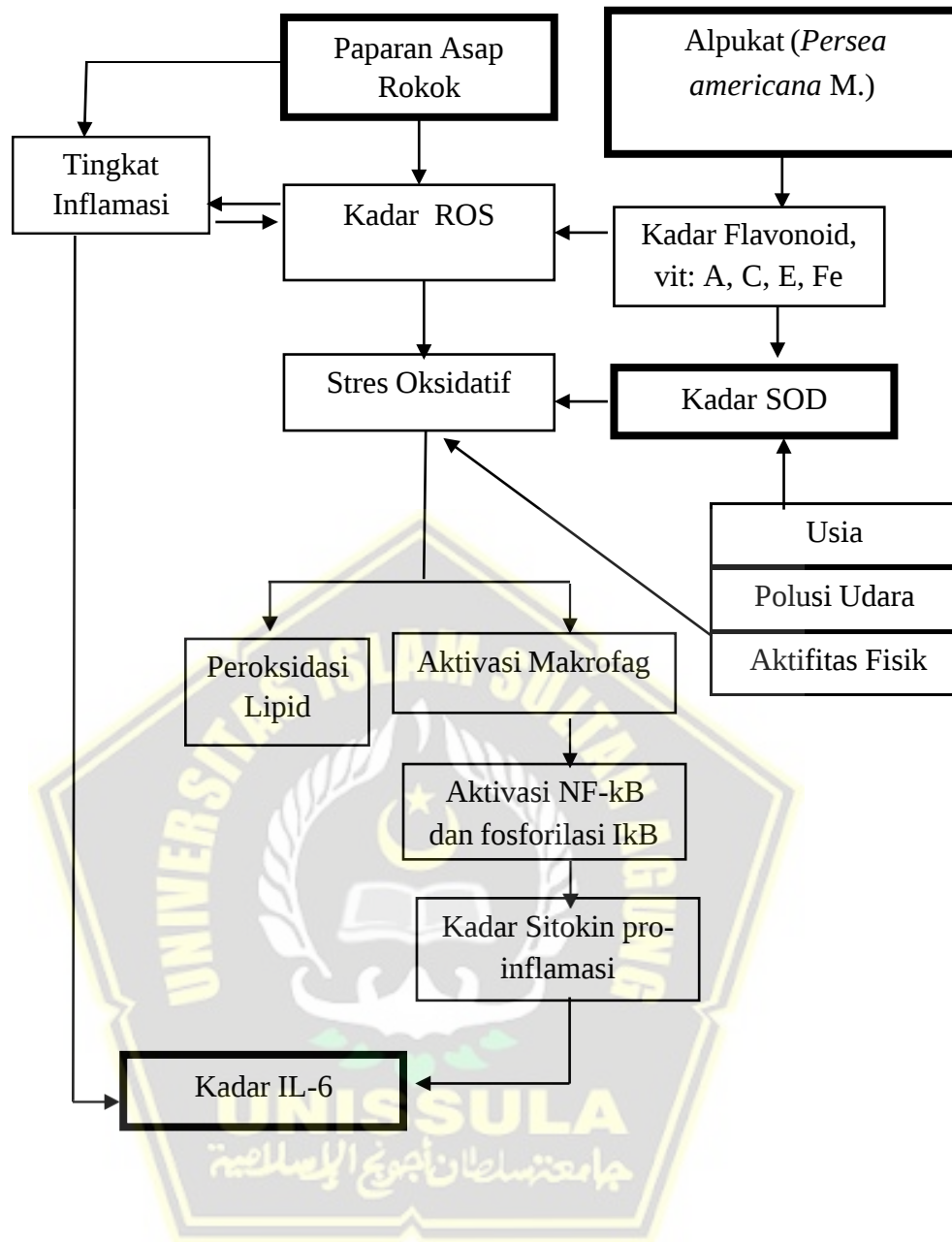
3.1. Kerangka Teori

Asap rokok memiliki kandungan zat yang karsinogenik (tar, nikotin, CO). Efek asap rokok sangat berbahaya bagi tubuh karena dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas. *Reactive oxygen species* (ROS) merupakan salah satu turunan radikal bebas didalam tubuh meliputi; superoksida anion (O_2^-), radikal hidroksil (HO), lipid (R), dan peroksida lainnya. Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas (prooksidan) dan sistem pertahanan (antioksidan) tubuh dikenal dengan stress oksidatif. Stress oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid. Radikal bebas didalam tubuh dapat menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid yang kemudian mengalami dekomposisi menjadi SOD. SOD merupakan antioksidan pertama dalam pertahanan tubuh terhadap radikal bebas.

Asap rokok yang mengandung radikal bebas masuk kedalam paru-paru dan mengaktivasi makrofag. Keadaan tersebut memicu aktivasi NF-kB dan fosforilasi inhibitor NF-kB (IkB). Selanjutnya IkB mengalami degradasi proteosomal sehingga NF-kB berikatan dengan target gen dan menstimulasi terjadinya transkripsi gen inflamasi didalam nukleus. Aktivasi NF-kB yang mengalami peningkatan direspon oleh makrofag untuk memproduksi dan mensekresi sitokin proinflamatori IL-6 sebagai indikator terjadinya inflamasi.

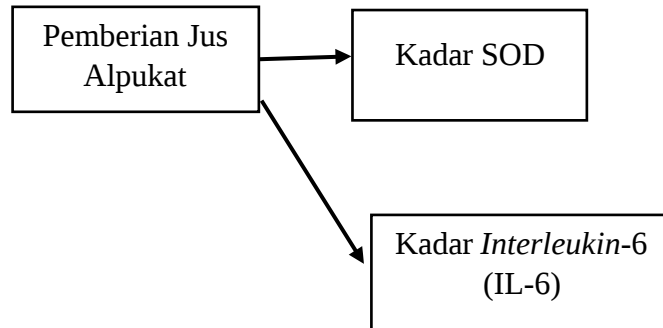
Sitokin IL-6 bekerja dengan mengatur aktivasi, diferensiasi, dan proliferasi sel dalam proses inflamasi.

Alpukat merupakan salah satu buah yang tinggi antioksidan. Kandungan flavonoid pada buah alpukat memiliki aktivitas kuat terhadap antioksidan yang dapat menstabilkan *Reactive Oxygen Species* melalui reaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga stress oksidatif menurun dan peroksidasi lipid dapat ditekan. Penurunan ROS juga mengakibatkan NF- κ B dan fosforilasi I κ B tidak teraktivasi sehingga terjadi penurunan produksi IL-6 oleh makrofag. Penurunan IL-6 dan peroksidasi lipid dapat menekan terjadinya inflamasi dan kerusakan jaringan. Perlawanan utama terhadap stress oksidatif 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. Kandungan flavonoid pada alpukat dapat melindungi makromolekuler penting dari oksidatif sehingga dapat menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan antioksidan dalam tubuh SOD. Kandungan vitamin A, B, C, E, Fe pada buah alpukat dapat langsung menangkap radikal bebas, baik dengan atau tanpa katalisator enzim.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Ada pengaruh pemberian jus alpukat terhadap kadar SOD dan kadar *interleukin*-6 pada tikus wistar jantan yang dipapar asap rokok.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* terhadap hewan coba Tikus Jantan Wistar. Sampel diambil dari 20 ekor tikus jantan dengan berat badan 150-200 gram dan berumur 8 minggu.

4.2. Variabel dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Jus Alpukat.

4.2.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar SOD dan kadar interleukin-6.

4.2.3. Variabel Prakondisi

Variabel prakondisi dalam penelitian ini adalah Asap Rokok.

4.3. Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Bebas

Jus alpukat yang digunakan adalah hasil dari penghancuran buah alpukat dengan alat listrik (blender). Diberikan kepada tikus wistar jantan dengan dosis berbeda untuk tiap kelompok perlakuan yaitu 2,7

gram/hari dan 5,4gram/hari sebelum diberi paparan asap rokok selama 14 hari. Skala : Ordinal

4.3.2. Variabel Tergantung

4.3.2.1. Kadar SOD

Superoksida Dismutase (SOD) adalah metalloenzymes yang mengandung atom tembaga, besi, dan seng yang dibentuk didalam sitosol yang mengandung mangan yang dibentuk didalam matrik mitokondri.⁹ Untuk mengetahui kadar SOD dalam penelitian ini, diambil dari sampel darah pada sinus orbitalis hari ke-15 untuk pemeriksaan SOD dengan menggunakan metode kolorimetri dibaca pada spektrofotometer dengan Panjang gelombang 450 nm dengan satuan persen (%).

Skala : Ratio

4.3.2.2. Kadar *Interleukin-6*

Banyaknya IL-6 dalam serum darah hewan coba yang diambil pada hari ke-15 pada sinus orbitalis untuk pemeriksaan kadar IL-6 dengan menggunakan metode ELISA (IL-6 *immunoassay*).

Skala : Ratio

4.3.3. Variabel Prakondisi

- a. Paparan asap rokok menggunakan rokok konvensional (kretek) sebanyak 4 batang perhari.
- b. Paparan asap rokok diberikan pada kelompok 2,3,4 sedangkan kelompok 1 merupakan kelompok normal, tidak diberi paparan asap rokok.
- c. Pengasapan ke tikus diberikan secara berkelompok, tikus dimasukkan kedalam tempat pengasapan konvensional yang telah diberi lubang penghubung untuk memasukan asap rokok.

4.4. Materi Penelitian

4.4.1. Karakteristik Bahan

Bahan yang digunakan adalah jenis buah alpukat mentega, tingkat kematangan alpukat 7 hari setelah dipetik (dengan syarat bila buah dipetik sudah cukup ketuaannya, warna kulit buah sudah hijau muda agak kusam (tidak mengkilat), terdapat bintik-bintik pada kulit buah, buah diketuk dengan jari akan berbunyi nyaring, dan apabila buah digoyang akan terdengar goncangan biji). Buah alpukat dilakukan penghancuran dengan alat blender listrik tanpa penambahan air.⁵⁵

4.4.2. Karakteristik Hewan Coba

4.4.2.1. Kriteria Inklusi

- a. Hewan coba yang digunakan adalah Tikus Jantan Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- b. Tikus yang digunakan adalah tikus yang berumur 8 minggu dengan berat badan 150-200 gram.

4.4.2.2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah tikus percobaan yang tidak aktif, lemah, cacat, selama penelitian.

4.4.2.3. Kriteria Drop Out

Tikus percobaan mati saat penelitian berlangsung.

4.4.2.4. Perawatan Hewan Coba

- a. Jumlah makanan yang diberikan perhari pada tikus 15-20 gram dan diberi minum *aquades ad libitum* perhari.
- b. Tikus diberikan makanan berupa pakan *standart Comfeed AD II* produksi PT. Japfa Comfeed Indonesia,

Tbk dengan komposisi :

- 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 %
- Coccidiotat : +
- Antibiotik : +

c. Tikus ditempatkan dalam kandang secara terpisah, sesuai kelompok dengan suhu lingkungan 28-30 ° C. Kandang tikus dibersihkan secara berkala.

4.5. Instrumen dan Bahan Penelitian

4.5.1. Alat Penelitian

1. Kandang tikus dengan tempat pakan berukuran P:40 cm, L:30 cm, T:30 cm
2. Timbangan tikus (Nigushi Scale)
3. Kandang pengasapan
4. Gelas Beaker
5. Sarung tangan
6. Tabung ependorf
7. Kamera digital
8. Spektrofotometer
9. Spuit 5 ml
10. Selang aerator
11. Pipet gelas
12. Biovision SOD Spektrofotometri/Colorimetric Assay Kit

13. Kit IL-6 serum
14. Biofin antibody
15. HRP conjugate
16. Reagent substrat
17. Stop solution
18. Blender listrik

4.5.2. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tikus Wistar Jantan yang berumur 8 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Tikus wistar jantan adalah hasil pengembangan hewan yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gajah Mada Yogyakarta, sebanyak 20 ekor tikus wistar jantan yang dipilih dari hasil perbanyakan untuk keperluan penelitian.

4.6. Cara Penelitian dan Alur Kerja

4.6.1. Proses Pengolahan Buah Alpukat

Buah alpukat dicuci bersih, lalu dikupas kulitnya, diambil daging atau isi dari buah lalu dipotong-potong dan kemudian dimasukkan kedalam blender listrik untuk dihaluskan. Dosis buah alpukat untuk dikonsumsi manusia adalah 300 gram/hari. Konversi dosis manusia (70kg) dan pada tikus (BB=200gram) adalah 0,018. Sehingga didapatkan dosis pertama 2,7gram/hari dan dosis kedua 5,4 gram/hari.

Selanjutnya, jus alpukat dalam dosis tersebut diberikan pada tikus wistar jantan peroral dengan sonde satu kali sehari sebelum dipapar asap rokok.

4.6.2. Persiapan Asap Rokok

Rokok yang digunakan adalah rokok kretek. Proses pemaparan asap rokok dilakukan setiap hari menggunakan 4 batang rokok. Pemaparan dilakukan selama 14 hari didalam kandang pengasapan rokok dimana saat perlakuan rokok dijaga agar tetap menyala dan asap terpapar maksimal oleh tikus.

4.6.3. Persiapan Hewan Coba

1. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan coba pada tikus wistar jantan berumur 8 minggu dengan berat badan 150-200 gram, dilakukan adaptasi selama 7 hari untuk penyesuaian dengan lingkungan. Selama proses adaptasi tikus tetap diberi makan dan minum.
2. Sebanyak 20 ekor tikus wistar jantan dipilih secara random untuk mendapatkan nomor urut. Kemudian dikelompokkan menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Kemudian tikus dimasukkan kedalam kandang pengasapan menggunakan alat yang sudah tersedia di laboratorium hewan coba yang ada di UGM, yang perlu diperhatikan adalah rokok tetap menyala dan pengasapan terhadap hewan coba biar

maksimal. Selama penelitian hewan coba diberikan makan dan minum secara teratur, kebersihan dan kenyamanan kandang juga harus selalu dijaga.

4.6.4. Penentuan aktivitas antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometri visibel. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen penghambatan radikal bebas yang diperoleh dengan membandingkan selisih absorbansi larutan kontrol negatif dengan sampel (kuersetin, ekstrak etanol alpukat yang telah ditambah DPPH) terhadap absorbansi larutan kontrol positif. Potensi penghambatan radikal bebas dinyatakan dalam harga ES50 (*Effective scavenging*50). Radikal DPPH adalah radikal bebas stabil berwarna biru dapat menerima satu atau menjadi molekul yang stabil dan tidak berwarna.

4.6.5. Alur Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok dan diberi perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus wistar jantan. Pembagian kelompok sebagai berikut :

- 1) Kelompok 1 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standart selama 14 hari.
- 2) Kelompok 2 : 5 ekor tikus wistar jantan diberikan pakan standart dan diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

- 3) Kelompok 3 : 5 ekor tikus wistar jantan diberikan pakan standart dengan penambahan pemberian jus alpukat dengan dosis 2,7 gram /hari dan diberi paparan asap rokok selama 14 hari.
- 4) Kelompok 4 : 5 ekor tikus wistar jantan diberikan pakan standart dengan penambahan jus alpukat dengan dosis 5,4 gram/hari dan diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

Pada hari ke 15, tikus wistar jantan diambil darahnya untuk melakukan pemeriksaan enzim *Superoksida Dismustase* (SOD) dan kadar *interleukin-6* (IL-6).

4.6.6. Prosedur Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan darah dari sinus orbitalis dilakukan dengan cara hewan coba dipegang pada kulit bagian tengkuk dan punggung dengan ibu jari dan telunjuk kiri. Pipet gelas digunakan menyuntik dipegang tangan kanan, kemudian pipet di arahkan miring 45^o ke daerah sinus orbitalis (kantus medial). Masukkan pipet sampai menembus bagian kulit luar sampai terdengar bunyi klik, miringkan tikus dan darah akan mulai menetes pada pipet dan kemudian ditampung pada tabung penampung.⁵⁶

4.6.7. Prosedur Pemeriksaan *Superoksida Dismustase*

- 1) Tambahkan 20 µl dari solusi sampel untuk setiap sampel dan kosongkan sumur dan tambahkan 20 µl H₂O setiap masing-masing sumur kosong 1 dan kosong 3.
- 2) Tambahkan 200 µl dari solusi kerja WST ke setiap sumur.

- 3) Tambahkan 20 µl Dilution Buffer ke setiap sumur Blank2 dan Blank 3.
- 4) Tambahkan 20 µl larutan enzim bekerja ke setiap sampel dan kosongkan 1 dengan baik, aduk hingga rata.
- 5) Inkubasi pelat pada suhu 37 ° C selama 20 menit.
- 6) Baca absorbansi pada 450 nm menggunakan microplate reader.
- 7) Hitung aktivitas SOD (tingkat penghambatan %) menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Aktivitas SOD (\%)} = \frac{\text{Ablank1}-\text{Ablank3}}{\text{Ablank1}-\text{Ablank3}} \times 100\% \dots$$

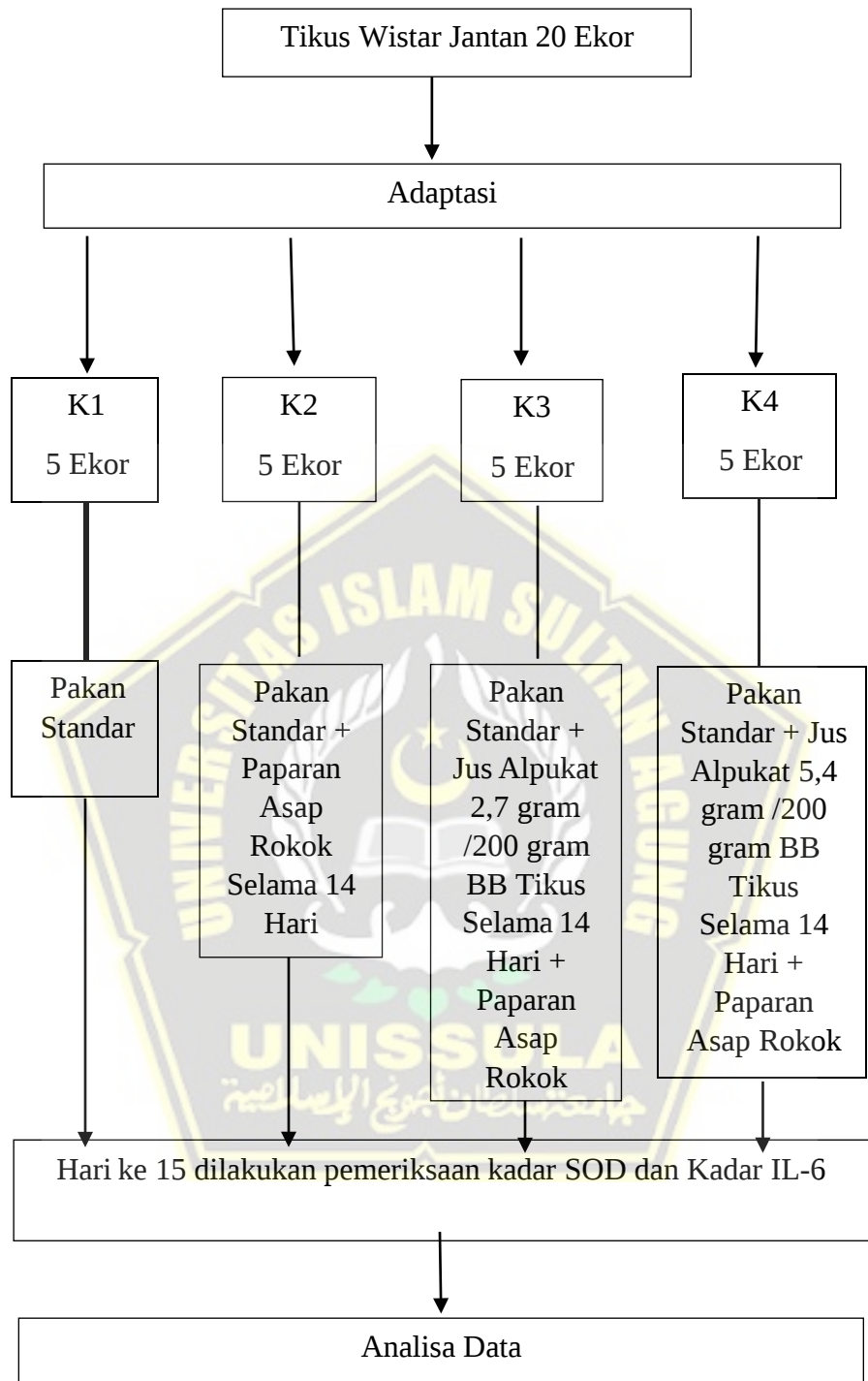
4.6.8. Prosedur Pemeriksaan Kadar Interleukin-6 (IL-6)

- 1) Diluen sebanyak 50 µL dimasukkan kedalam semua sumur.
- 2) Masing-masing sumur dimasukkan 50 µL standar, kontrol, dan sampel, dicampurkan secara halus selama 1 menit, ditutup dengan perekat, dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang.
- 3) Tiap sumur diaspirasi dan dicuci 5 kali. Pencucian dilakukan dengan 400 µL *wash Buffer*. Pada akhir pencucian, sisa dari *wash buffer* dibuang dan dikeringkan dengan kertas pengering.
- 4) Rat IL-6 Conjugate sebanyak 100 µL dimasukkan ke masing-masing sumur, lalu ditutup dengan perekat, dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Kemudian dilakukan pencucian ulang sebanyak 5 kali. Ditambahkan sebanyak 100 µL *substrate solution* pada masing-masing sumur, diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.

- 5) Ditambahkan 100 μL *stop solution* ke dalam masing-masing sumur dan dicampurkan. Dalam 30 menit dibaca pada panjang gelombang 450 nm.



4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.1. Alur Penelitian

4.8. Analisis Data

Pada penelitian ini data rerata kadar SOD dan kadar IL-6 ditampilkan dan disajikan dalam bentuk deskriptif dan tabel. Berikutnya data di uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data dengan uji *Levene test*. Distribusi data kadar SOD dan IL-6 normal dan homogen (seragam), sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik ANOVA satu arah (*One Way Anova*) dengan nilai $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan uji *posthoc Tukey*.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel 20 ekor tikus *wistar* jantan dengan berat badan 150-200 gram 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 standar tanpa diberikan paparan asap rokok, kelompok 2 yaitu kelompok perlakuan dengan pemberian pakan standar yang diberi paparan asap rokok, kelompok 3 yaitu kelompok perlakuan diberi pakan standar dan pemberian jus alpukat dengan dosis 2,7 gram/ 200 gram BB tikus/ hari yang diberi paparan asap rokok, dan kelompok 4 yaitu kelompok perlakuan diberi pakan standar dan pemberian jus alpukat dengan dosis 5,4 gram/ 200 gram BB tikus/ hari yang diberi paparan asap rokok. Hari ke 15 dilakukan pemeriksaan kadar SOD dan IL-6. Pemeriksaan SOD menggunakan spektrofotometri dan pemeriksaan IL-6 menggunakan ELISA. Penelitian pemberian jus alpukat (*Persea americana M*) terhadap kadar SOD dan kadar IL-6 pada tikus *wistar* jantan yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari. Hasil penelitian tersebut tertera pada tabel 5.1

Tabel 5.1. Hasil Pengukuran kadar SOD (%) dan IL-6 (pg/ml)

Variabel	Kelompok				P-Value
	K1	K2	K3	K4	
SOD (%)	Mean $\pm$ SD	83,23 $\pm$ 3,97	28,23 $\pm$ 3,50	42,06 $\pm$ 3,04	73,53 $\pm$ 3,28
	Shapiro Wilk	0,980*	0,899*	0,754*	1,000*
	Levene Test				
	One Way Anova				0,927 ⁺ 0,000
IL-6 (pg/ml)	Mean $\pm$ SD	32,34 $\pm$ 0,59	79,93 $\pm$ 0,69	50,94 $\pm$ 0,88	38,68 $\pm$ 0,65
	Shapiro Wilk	0,747*	0,926*	0,853*	0,784*
	Levene Test				
	One Way Anova				0,927 ⁺ 0,000

Keterangan : tanda * menunjukkan hasil distribusi data normal ($p > 0,05$). Tanda ⁺ menunjukkan data homogen dengan uji Levene test ($p > 0,05$). Tanda ^ menunjukkan hasil signifikan untuk uji *One Way Anova* ($p < 0,05$).

5.1.1. Kadar SOD (*Superoxide Dismutase*)

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata kadar SOD tertinggi pada kelompok kontrol yakni nilai 83,23 $\pm$ 3,97 sedangkan untuk nilai rata-rata terendah terdapat pada kelompok 2 dengan nilai 28,23 $\pm$ 3,50. Kadar SOD antar kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$). Kadar SOD antar kelompok menggunakan uji *one way anova* berbeda bermakna ($p < 0,05$). Perbedaan kadar SOD antar dua kelompok menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara K1 dengan K2, K3, K4. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna dilakukan uji *post Hoc* dengan uji *Tukey*.

5.1.2. Hasil Kadar IL-6 (*Interleukin-6*)

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata pada kadar IL-6 tertinggi pada kelompok 2 dengan nilai 79,93 $\pm$ 0,69 sedangkan untuk nilai rata-rata terendah terdapat pada kelompok 1 dengan nilai 32,34 $\pm$. Kadar IL-6 antar kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$). Kadar IL-6 antar kelompok menggunakan uji *one way anova*

berbeda bermakna ($p < 0,05$). Perbedaan kadar IL-6 antar dua kelompok menunjukkan perbedaan bermakna antara K1 dengan K2, K3, K4. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna dilakukan uji *postHoc* dengan uji *Tukey*.

Tabel 5.2. Hasil Analisis Kadar SOD dengan Uji *Pos Hoc Tukey*

	K2	K3	K4
K1	0,000	0,000	0,002
K2		0,000	0,000
K3			0,000

Keterangan :

K1 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standar selama 14 hari

K2 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standard dan diberi perlakuan paparan asap rokok selama 14 hari

K3 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standar dengan penambahan pemberian jus alpukat 2,7 gram/ 200 gram BB tikus/ hari

K4 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standar dengan penambahan pemberian jus alpukat 5,4 gram/ 200 gram BB tikus/ hari

Berdasarkan tabel 5.2 diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok kadar SOD 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 0,002. K2 dengan K3 dengan nilai 0,000, K2 dengan K4 dengan nilai 0,000, K3 dengan K4 dengan nilai 0,000. Berdasarkan data diatas

dapat disimpulkan bahwa masing-masing kelompok pada kadar SOD terdapat perbedaan yang signifikan.

Tabel 5.3. Hasil Analisis Kadar IL-6 dengan Uji *Pos Hoc Tukey*

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

Keterangan :

K1 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standar selama 14 hari

K2 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standard dan diberi perlakuan paparan asap rokok selama 14 hari

K3 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standar dengan penambahan pemberian jus alpukat 2,7 gram/ 200 gram BB tikus/ hari

K4 : 5 ekor tikus wistar jantan diberi perlakuan pakan standar dengan penambahan pemberian jus alpukat 5,4 gram/ 200 gram BB tikus/ hari

Berdasarkan tabel 5.3 diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok pada kadar IL-6 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. K2 dengan K3 dengan nilai 0,000, K2 dengan K4 dengan nilai 0,000, dan K3 dengan K4 dengan nilai 0,000. Berdasarkan dari

data diatas dapat disimpulkan bahwa masing-masing kelompok pada kadar IL-6 terdapat perbedaan yang signifikan.

5.2. Pembahasan

Asap rokok mengandung radikal bebas, tingginya radikal bebas didalam tubuh memicu muncul *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengakibatkan stress oksidatif, hal ini dapat terjadi apabila terdapat ketidakseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan. Kelompok perlakuan yang diberikan paparan asap rokok setiap hari sebanyak 4 batang adalah K2, K3, K4.

Hasil pemeriksaan kadar SOD pada kelompok paparan asap rokok tanpa diberi jus alpukat lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol seperti tabel 5.1 yang menunjukkan bahwa paparan asap rokok dapat menurunkan kadar SOD. Hal tersebut disebabkan oleh pemberian paparan asap rokok selama 14 hari dapat menyebabkan kondisi stress oksidatif. Ketika konsentrasi ROS tinggi yang terjadi selama pemaparan asap rokok yang berkepanjangan, menyebabkan pertahanan antioksidan SOD tidak mampu untuk menetralkan ROS maka mengakibatkan kerusakan sel dan jaringan.

Kadar SOD pada kelompok yang diberi jus alpukat dengan dosis 5,4 gram/BB 200 gr/hari dan paparan asap rokok lebih tinggi dibanding kelompok yang diberi jus alpukat dengan dosis 2,7 gram/BB 200 gr/hari dan paparan asap rokok. Meskipun kadar SOD kelompok dosis 5,4 gr/ BB 200gr/hari tertinggi namun lebih rendah dari kelompok kontrol yang tertera pada tabel 5.1. Hal ini disebabkan pada kelompok kontrol tidak beri perlakuan

paparan asap rokok namun tetap diberi pakan standar sehingga kadar SOD memiliki nilai yang tertinggi. Sedangkan kelompok yang diberi jus alpukat dengan dosis 5,4 gr/BB 200 gr/hari dan paparan asap rokok lebih tinggi dibanding kelompok yang diberi jus alpukat dengan dosis 2,7 gr/BB 200 gr/hari dan diberi paparan asap rokok, hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis jus alpukat mempengaruhi kadar SOD yang lebih tinggi. Kandungan flavonoid, vitamin A, C, E mampu meningkatkan enzim antioksidan dan menurunkan kandungan peroksida.

Hasil penelitian sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill) golongan flavonoid dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat.⁵⁷ hal ini disebabkan karena pada kandungan flavonoid dapat mengurangi pembentukan radikal bebas didalam tubuh.

Hasil penelitian kadar IL-6 pada kelompok perlakuan paparan asap rokok tanpa diberi jus alpukat (K2) lebih tinggi dibanding dengan kelompok kontrol (K1), kelompok yang diberi jus alpukat dengan dosis 2,7 gr/BB 200 gr/hari dan diberi paparan asap rokok (K3), dan kelompok (K4) dengan dosis jus alpukat 5,4 gr/BB 200 gr/hari seperti yang tertera pada tabel 5.1. Hal ini karena paparan asap rokok dapat memberikan dampak yang negatif pada tubuh, yakni peningkatan radikal bebas. Besarnya jumlah radikal bebas dalam tubuh akan menimbulkan kelainan struktur jaringan yang berkaitan dengan respon inflamasi, yakni IL-6 yang menurun.

Kadar IL-6 pada kelompok yang diberi jus alpukat dengan dosis 5,4 gram mengalami penurunan yang signifikan disbanding dengan kelompok yang diberi jus alpukat dengan dosis 2,7 gram seperti pada tabel 5.1. pemberian jus alpukat terbukti mampu menekan IL-6 sebagai sitokin proinflamasi yang dapat mengakibatkan peradangan, hal ini disebabkan karena kondisi stress oksidatif akibat pemberian paparan asap rokok.

Kandungan flavonoid pada buah alpukat dapat menghambat kerja enzim yang menghasilkan ROS sehingga kerusakan sel dan jaringan dapat dicegah serta stress oksidatif tidak terjadi lagi. Kandungan vitamin A,B,C,E mampu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan bahwa ekstrak etanol biji alpukat memiliki potensi bila digunakan sebagai agen inflamasi pada hamster yang terinduksi karagenan. Jenis senyawa yang dapat berfungsi sebagai anti inflamasi adalah flavonoid, hal ini disebabkan karena kandungan flavonoid dapat menangkal radikal bebas yang menimbulkan munculnya respon inflamasi.⁸

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah, tidak melakukan pengukuran kadar ROS yang merupakan faktor dari penyebab stress oksidatif, tidak melakukan pemeriksaan histopatologi jaringan akibat paparan asap rokok, pada penelitian ini juga tidak melakukan pemeriksaan penentuan total kapasitas antioksidan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- 6.1.1. Pemberian jus alpukat (*Persea americana M.*) mempengaruhi kadar SOD pada tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari.
- 6.1.2. Pemberian jus alpukat (*Persea americana M.*) mempengaruhi kadar IL-6 pada tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang diberikan adalah:

- 6.2.1. Perlu penelitian lebih lanjut tentang pengukuran ROS setelah dilakukan pemberian jus alpukat (*Persea americana M.*) pada tikus yang dipapar asap rokok.
- 6.2.2. Perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut mengenai histopatologi jaringan pada tikus akibat paparan asap rokok.
- 6.2.3. Perlu penelitian lebih lanjut tentang hitung total kapasitas antioksidan buah alpukat (*Persea americana M.*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Suryadinata RV. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). *Amerta Nutr.* 2018;2(4):317. doi:10.20473/amnt.v2i4.2018.317-324
2. I Made Oka Adi Parwata. *Bahan Ajar Uji Bioaktivitas : Antioksidan.*; 2015.
3. Aldaham S, Foote JA, Chow HHS, Hakim IA. Smoking Status Effect on Inflammatory Markers in a Randomized Trial of Current and Former Heavy Smokers. *Int J Inflam.* 2015;2015. doi:10.1155/2015/439396
4. Jenifer HD, Bholu S, Kalburgi V, Warad S, Kokatnur VM. The influence of cigarette smoking on blood and salivary super oxide dismutase enzyme levels among smokers and nonsmokersdA cross sectional study. *J Tradit Complement Med.* 2015;5(2):100-105. doi:10.1016/j.jtcme.2014.11.003
5. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015;30(1):11-26. doi:10.1007/s12291-014-0446-0
6. Cahyani KIS. Gambaran Kadar Serum 6 Pada Perokok Aktif. *J Sains dan Teknol.* 2020;11(1):1-7.
7. Sadewo GB, Hermawati D, Mahayu R, Ariani D. Pengaruh Pemberian Jus Alpukat (*Persea americana*. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro).* 2019;8(2):823-831.
8. Tinesya D, Andhita N, Vidmar R. Eksplorasi Potensi Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana*) Sebagai Agen Antiinflamasi. *LENSA (Lentera Sains) J Pendidik IPA.* 2019;9(2):52-56. doi:10.24929/lensa.v9i2.66
9. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med.* 2018;54(4):287-293. doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001
10. Nurhayati S, Kisnanto T, Syaifudin M. Superoksida Dismutase (Sod) : Apa Dan Bagaimana Peranannya Dalam Radioterapi. *Bul Al.* 2011;13(2):67-74. doi:10.23886/ejki.6.9670.

11. Kristiningrum E. Peranan SOD pada Tatalaksana Akne Vulgaris. *CDK-261*. 2018;45(2):133-136.
12. Munawwaroh R, Bintari YR, Purnomo Y, Munawwaroh R, Bintari YR, Purnomo Y. Efek Dekokta Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap Kadar Superoxide Dismutase (SOD) dan Malondialdehyde (MDA) Hepar Ikan Zebra (*Danio rerio*) Yang Dipapar Malathion Secara Kronik. *J Bio Komplementer Med*. 2019;6(3):223-229.
13. Sri Wahjuni MKDI. SUPEROKSIDA dismutase. Published online 2015.
14. Simanjuntak E, Zulham. Superoksida Dismutase (SOD) dan Radikal Bebas. *J Keperawatan dan Fisioter*. 2020;2(2).
15. Widayati E. Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxi-dant. *J Maj Ilm Sultan Agung*. 2012;50(128).
16. Werdhasari A. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Indones J Biotechnol Med*. 2014;3(2):59-68. doi:10.22435/jbmi.v3i2.4203.59-68
17. Winarsi H, Yuniati A, Purwanto A. Deteksi Aging pada Perempuan Berdasarkan Status Antioksidan. *Maj Kedokt Bandung*. 2013;45(3):141-146. doi:10.15395/mkb.v45n3.143
18. KRISTINA H, SARTONO N, RUSDI R. Kadar Peroksida Lipid dan Aktivitas Superoksida Dismutase Serum Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Bioma*. 2015;11(1):1. doi:10.21009/bioma11(1).1
19. Saraswati RA, Maharani N, Utomo AW. Pengaruh Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Kadar Enzim Superoxide Dismutase (Sod) Tikus Yang Diinduksi Minyak Jelantah. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*. 2018;7(2):1511-1519.
20. Tazuyyun S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) Terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Paru Tikus Wistar Setelah Paparan Asap Rokok. 2020;000:137.
21. Sinaga FA. Stress Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Gener Kampus*. 2016;9(2):176-189. doi:10.1042/BJ20091286
22. Yuniarti E. Pengaruh Latihan Submaksimal Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat. *J Sainstek*.

- 2014;6(2):189-192.
23. Masfufatun M, Tania POA, Raharjo LH, Baktir A. Kadar IL-6 dan IL-10 Serum pada Tahapan Inflamasi di *Rattus norvegicus* yang terinfeksi *Candida albicans*. *J Kedokt Brawijaya*. 2018;30(1):19. doi:10.21776/ub.jkb.2018.030.01.4
 24. Siagian D. *Perbedaan Kadar Serum Interleukin-6 Pada Kanker Paru Perokok Dan Tidak Perokok*. 2018. <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/8347>
 25. Niu W, Liu Y, Qi Y, Wu Z, Zhu D, Jin W. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: A meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int J Cardiol*. 2012;157(2):243-252. doi:10.1016/j.ijcard.2011.12.098
 26. Wahyuniati N, Maulana R. Peran Interleukin-10 Pada Infeksi Malaria. *J Kedokt Syiah Kuala*. Published online 2015:96-103.
 27. Kang S, Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*. 2019;50(4):1007-1023. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.026
 28. Indonesia U, Kusumaningrum W, Kedokteran F, Pendidikan P, Spesialis D. *Peran Interleukin 6 Dalam Menentukan Keluaran*. 2014.
 29. Chamarthi B, Williams GH, Ricchiuti V, et al. Inflammation and hypertension: The interplay of interleukin-6, dietary sodium, and the renin-angiotensin system in humans. *Am J Hypertens*. 2011;24(10):1143-1148. doi:10.1038/ajh.2011.113
 30. Nusa G, Widyastiti N. Perbedaan Neutrophil-Lymphocyte Ratio Pada Subjek Bukan Perokok, Perokok Ringan Dan Perokok Sedang-Berat. *J Kedokt Diponegoro*. 2016;5(4):903-910.
 31. Irawati L, Acang N, Irawati N. Artikel Penelitian Ekspresi Tumor Necrosis Factor-Alfa (Tnf- A) Dan Inter Leukin-10 (Il-10) Pada Infeksi. *Maj Kedokt Andalas*. 2008;10.
 32. Winarni S, Nissa C, Purnami CT. *Modul Makanan Kaya Antioksidan Untuk Peningkat Fertilitas;* 2019. <https://doc->

pak.undip.ac.id/1902/1/Modul.Makanan.Kaya.Antioksidan.Untuk.Peningkat.Fertilitas.pdf

33. Diyanti R. *Daya Hambat Ekstrak Etanol Buah Alpukat (Persea Americana Mill) Terhadap Pertumbuhan Candida Albicans*. 2018.
34. Ziraluo YPB, Duha M. Diversity Study Of Fruit Producer Plant In Nias Islands. *J Inov Penelit*. 2020;1(4):683-694.
35. 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
36. Dewi BS, Rahmat Safe'I D. "*Biodiversitas Flora Dan Fauna Universitas Lampung*", (Yogyakarta:Plantaxia, 2017), Hal 10. Vol 53.; 2017.
37. United states departement of agriculture. *Persea americana* Mill, Natural Resources Conversation Service. Published online 2014. <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=PEAM3>
38. Kalie MB. *Alpukat: Budidaya Dan Pemanfaatan*. Penerbit Kanisius; 1997.
39. Arukwe U, Amadi BA, Duru MKC, et al. Chemical Composition of *Persea americana* Leaf , Fruit and Seed. *Ijrras*. 2012;11(2):346-349.
40. Limbong JTW. *Formulasi Masker Gel Peel Of Dari Ekstrak Etanol Buah Alpukat (Persea Americana Mill.) Dan Madu (Mel Depuratum)*. 2018.
41. Astuti Y. *Teknik Ekstraksi Soxhlet Dan MAE (Microwave Assisted Extraction) Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Minyak Biji Alpukat*. 2020.
42. Widigdo, Pandu A, Witjahyo RB, Wijayahadi N. *Pengaruh Pemberian Dosis Bertingkat Madu Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar Pada Mencit Strain Balb/c Jantan Yang Diberi Paparan Asap Rokok*. 2014.
43. Putri AP. Efek Vitamin C Terhadap Kualitas Spermatozoa Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *J Major*. 2015;4(1).
44. Setiawan H, Nugraha J. Analisis Kadar IFN- γ dan IL-10 pada PBMC Penderita Tuberkulosis Aktif, Laten dan Orang Sehat, Setelah di Stimulasi dengan Antigen ESAT-6. *J Biosains Pascasarj*. 2016;18(1):50. doi:10.20473/jbp.v18i1.2016.50-63

45. Noni R. Kadar Karbon Monoksida (CO) Ekspirasi Pada Perokok, Bekas Perokok Dan Bukan Perokok Di RSUP Ham Medan Sumatera Utara. *J Univ Sumatera Utara*. Published online 2018:44-48.
46. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*. 2004;142(2):231-255. doi:10.1038/sj.bjp.0705776
47. Khaira K. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan. *Stain Batusangkar Sumatera Barat*. 2010;2:184.
48. Lyamzaev KG, Popova EN, Chernyak B V. Mitochondria as Source of Reactive Oxygen Species under Oxidative Stress . Study with Novel Mitochondria-Targeted Antioxidants – the “ Skulachev-Ion ” Derivatives. 2010;(February). doi:10.1134/S000629791002001X
49. Mirzad AN, Tada T, Ano H, Kobayashi I, Yamauchi T, Katamoto H. Seasonal changes in serum oxidative stress biomarkers in dairy and beef cows in a daytime grazing system. *J Vet Med Sci*. 2018;80(1):20-27. doi:10.1292/jvms.17-0321
50. Dungir SG, Katja DG, Kamu VS. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *J MIPA*. 2012;1(1):11. doi:10.35799/jm.1.1.2012.424
51. Iin B. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (Punica Granatum L.) Terhadap Fertilitas Mencit Jantan (Mus Musculus) Yang Diberi Paparan Asap Rokok*. 2021.
52. Yulianto RA, Isnaeni W, Susanti R. Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Kualitas Sperma Tikus Putih Yang Dipapar Timbal. 2013;2(2):71-77.
53. Febrianti dan Zulfikar. Aktivitas antioksidan buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dan buah stroberi (*Fragaria vesca* L.). *Pros Symbion (Symposium Biol Educ)*. Published online 2016:613-620.
54. Indika HN. *Daya Hambat Ekstrak Buah Alpukat (Persea Americana Mill) Metode Soxhletasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas Aeruginosa*. 2018.

55. Bappenas. ALPUKAT / AVOKAD (*Persea americana* Mill / *Persea gratissima* Gaerth). *Budid Pertan.* 2000;(Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi):1-18.
56. UDAYANA FKU. *Modul Praktikum Penanganan Hewan Coba.*; 2019.
<https://www.s3ilmukedokteranunud.org/wp-content/uploads/2020/12/MODUL-PRAKTIKUM-Penanganan-Hewan-Coba.pdf>
57. Hasan T, Farmasi PS, Makassar UI, Kimia PS, Makassar UI. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill .) ASAL ENREKANG. 2022;(April):166-175.

