

**PENGARUH CUKA APEL TERHADAP KADAR ANTIOKSIDAN
GLUTATHIONE PEROKSIDASE (G-Px)
(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar pada Program
Penghentian Rokok)**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

Waudy Ulya Safira

30102000189

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2024

Skripsi
**PENGARUH CUKA APEL TERHADAP KADAR ANTIOKSIDAN
GLUTATHIONE PEROKSIDASE (G-Px)**
**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar pada Program
Penghentian Rokok)**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Waudy Ulya Safira

30102000189

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal 14 Februari 2024

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

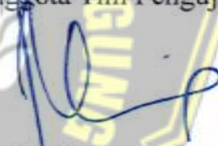
Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. Kamilia Dwi Utami, M.Biomed

Anggota Tim Penguji



dr. Nurina Tyagita, M.Biomed

Pembimbing II



dr. Widiana Rachim, M.Sc



dr. Rano Aditomo, Sp.THT-KL

Semarang, 14 Februari 2024

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Waudy Ulya Safira

NIM : 30102000189

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**PENGARUH CUKA APEL TERHADAP KADAR ANTIOKSIDAN
GLUTATHIONE PEROKSIDASE (G-Px)
(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar pada Program
Penghentian Rokok)**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai aturan yang berlaku.

Semarang, 14 Januari 2024

Yang menyatakan,



Waudy Ulya Safira

PRAKATA

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabbilalamin, puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang selalu memberikan nikmat serta anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Pengaruh Cuka Apel terhadap Kadar Antioksidan Gluthation Peroksidase (G-Px) (Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar pada Program Penghentian Rokok)”.

Skripsi ini disusun sebagai persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Islam Sultan Agung Semarang. terselesaikannya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk melakukan penelitian ini.
2. dr. Kamilia Dwi Utami, M. Biomed selaku dosen pembimbing pertama dan dr. Widiana Rachim, M.Sc selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
3. dr. Nurina Tyagita, M. Biomed selaku dosen penguji pertama dan dr. Rano Aditomo, Sp.THT selaku dosen penguji kedua yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan bimbingan serta arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.

4. Bapak Yuli selaku staf laboratorium Pangan dan Gizi yang telah membantu dalam perlakuan hewan coba hingga skripsi ini dapat selesai.
5. Keluarga saya tercinta, Bapak Sigid Mulyadi, S.E, M.M, Ibu Hidayatul Ilmiyah, S.Pd., adik Waudy Istana Filjannah yang telah memberikan kasih sayang, doa, fasilitas, dan dukungan yang tiada henti selama penyusunan skripsi ini.
6. Sahabat kuliah Jong Genuk (Fairuz, Ar-Rahmah, Aisah Asaa, Nadila, Shoffa, Nadylla, Silma, Fadli, dan Almadito Akbar) yang telah memberikan support dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat saya Pengmas (Jihaan Hasnaa, Salsabila Amarti, Safira Razan) yang telah membantu mengembalikan semangat saya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah SWT berkenan membalas semua kebaikan serta bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih sangat terbatas dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 17 Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
INTISARI	xiii
BAB I	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4
1.4.2. Manfaat Praktis	5
TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)	6
2.1.1 Definisi Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)	6
2.1.2 Metabolisme Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)	10
2.1.3 Cara Pengukuran Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)	11
2.2 Cuka Apel	11
2.2.1 Definisi Cuka Apel	11
2.2.2 Proses Pembuatan Cuka Apel	12
2.2.3 Kandungan Cuka Apel	12

2.3	Rokok.....	14
2.3.1	Kandungan Radikal Bebas dalam Rokok	14
2.3.2	Kandungan Nikotin dalam Rokok	16
2.3.3	Terapi Penghentian Merokok.....	18
2.4	Hubungan antara cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus program penghentian rokok	20
2.5	Kerangka Teori	22
2.6	Kerangka Konsep	23
2.7	Hipotesis	23
	METODE PENELITIAN	24
3.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	24
3.2	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	26
3.2.1	Variabel Penelitian.....	26
3.2.1.1	Variabel Bebas.....	26
3.2.1.2	Variabel Tergantung.....	26
3.2.2	Definisi Operasional	26
3.2.2.1	Pemberian Cuka Apel.....	26
3.2.2.2	Kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px).....	26
3.3	Subjek uji.....	26
3.3.1	Kriteria Inklusi.....	27
3.3.2	Kriteria Eksklusi	28
3.3.3	Kriteria Drop out.....	28
3.4	Instrumen dan Bahan Penelitian	28
3.4.1	Instrumen Penelitian	28
3.4.2	Bahan Penelitian	28
3.5	Cara Penelitian.....	29
3.5.1	Penyiapan Hewan Coba.....	29
3.5.2	Pembuatan Larutan Selenium dan Obat SSRI	30
3.5.3	Perlakuan Hewan Coba	30

3.5.4. Cara Pengukuran Kadar Antioksidan Glutathione Peroksidase	31
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	32
3.6.1. Tempat Penelitian	32
3.6.2. Waktu Penelitian.....	32
3.7 Alur Penelitian.....	33
3.8 Analisis Hasil.....	34
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	35
5.1 Hasil Penelitian.....	35
5.2 Pembahasan	38
KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1 Kesimpulan.....	42
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	49



DAFTAR SINGKATAN

ASEAN	: <i>Association of Southeast Asian Nations</i>
CAT	: <i>Katalase</i>
ELISA	: <i>Immunosorbent Assay</i>
GATS	: <i>Global Adult Tobacco Survey</i>
G-Px	: <i>Glutathione Peroksidase</i>
GR	: <i>Glutathione Reductase</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
GSSG	: <i>Glutathione Oxidase</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NFκB	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NRT	: <i>Nicotine Replacement Therapy</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SSRI	: <i>Selective Serotonin Reuptake Inhibitor</i>
SOD	: <i>Superoksidase Dismutase</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi Reduksi-Oksidasi Glutathione (GSH).....	10
Gambar 2.2 Susunan kimia kelas polifenol	13
Gambar 2.3 Efek ROS dalam Rokok terkait Antioksidan	15
Gambar 2.4 Kerangka Teori.....	22
Gambar 2.5 Kerangka Konsep	23
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian	24
Gambar 4.1 Diagram Batang Rerata Kadar Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px) pada Semua Kelompok	36



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Statistik Rerata Kadar Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)	37
Tabel 4.2 Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	37
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Post hoc LSD</i> terhadap Kadar Antioksidan Glutathione peroksidase (G-Px) pada Keempat Kelompok.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis Statistik Deskriptif, Uji Normalitas, Homogenitas, dan Analisis Perbedaan Rerata Kadar Glutathione Peroksidase (G-Px)	49
Lampiran 2. Ethical Clearance Penelitian.....	54
Lampiran 3. Surat Bukti Penelitian.....	55
Lampiran 4. Dokumentasi.....	56



INTISARI

Asap rokok dapat menyebabkan peningkatan ROS sehingga menurunkan kadar antioksidan endogen seperti glutathione peroksidase (G-Px). Nikotin dalam rokok menjadi zat adiktif sehingga perokok menjadi ketergantungan dan apabila berhenti timbul gejala putus nikotin. Cuka apel mengandung polifenol yang dapat meningkatkan antioksidan dan menurunkan gejala putus nikotin. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione Peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control grup design* menggunakan tikus jantan galur wistar dibagi 4 kelompok secara random. Kelompok normal diberi pakan standar selama 43 hari. Kelompok kontrol, kelompok cuka apel, dan kelompok *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor* (SSRI) + selenium diberi pakan standar dan dipapar asap rokok 4 batang/hari selama 4 minggu, dan perlakuan sesuai kelompok selama 2 minggu. Hari ke-43 tikus diambil darah untuk diperiksa kadar G-Px menggunakan metode ELISA.

Hasil rerata kadar antioksidan G-Px yaitu $56,24 \pm 0,97$ pg/ml (normal), $27,69 \pm 0,61$ pg/ml (kontrol), $50,44 \pm 0,64$ pg/ml (cuka apel), $49,38 \pm 0,49$ (SSRI + selenium). Hasil uji *One Way Anova* ($p < 0,05$) dilanjutkan uji *Post Hoc LSD* ($p < 0,05$) pada rerata kadar antioksidan G-Px menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antar kelompok

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa cuka apel berpengaruh terhadap kadar antioksidan glutathione Peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok.

Kata Kunci : asap rokok, cuka apel, kadar G-Px

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rokok dikaitkan menjadi penyebab kadar antioksidan yang rendah, terutama glutathione peroksidase (G-Px). Metode pemakaian obat-obatan nikotin dosis rendah *Nicotine Replacement Therapy* (NRT) atau pilihan lainnya seperti cuka apel dapat digunakan sebagai inisiasi penghentian rokok. Antioksidan cuka apel diharapkan dapat memproteksi dari toksisitas nikotin dan menurunkan senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) tubuh pengguna rokok (Ayoub et al., 2015). Zat adiktif dalam rokok yang paling dominan adalah nikotin yang bisa mengaktifkan pelepasan neurotransmitter glutamat dan dopamin yang dapat menyebabkan ketergantungan pengguna rokok (Rohman et al., 2021). Terapi untuk menghentikan rokok diperlukan karena efek rokok dapat menimbulkan stress oksidatif yang berbahaya bagi tubuh. Obat-obatan NRT memiliki harga yang tinggi dan sulit untuk dijangkau dibandingkan dengan penggunaan cuka apel yang lebih ekonomis dan dapat ditemukan dimanapun.

Data dari *The Tobacco Control Atlas ASEAN Region 4th Edition* menyebutkan bahwa, Indonesia termasuk sebagai negara dengan populasi pengguna rokok tertinggi di *Association of Southeast Asian Nations* (ASEAN) dengan persentase 36,3% di rentang usia 25-64 tahun (Tan & Dorotheo, 2018). Kementerian Kesehatan (Kemenkes) melaporkan dalam

Global Adult Tobacco Survey (GATS) 2021, bahwa terdapat kenaikan total perokok usia dewasa diatas 15 tahun yaitu sebesar 8,8 juta orang. Populasi perokok aktif maupun pasif di Indonesia memiliki jumlah 70,2 juta orang, dimana sebanyak 63,4% sudah berencana atau berpikir untuk berhenti merokok. Para perokok pasif terpapar asap rokok di lingkungan rumah dan tempat kerja seperti di kantor, fasilitas pelayanan kesehatan, restoran, transportasi umum (Kementerian Kesehatan, 2021)

Paparan asap rokok dapat menyebabkan penurunan konsentrasi antioksidan G-Px dan katalase (Putri Agustin et al., 2021). Cuka apel adalah bahan makanan yang memiliki banyak kandungan antioksidan, diantaranya terdapat asam asetat, senyawa polifenol, vitamin, mineral, garam mineral, dan asam organik (Denis, 2013). Senyawa polifenol yang didapat dari hasil fermentasi dapat membantu menghilangkan ROS dengan menghasilkan antiinflamasi dan dapat mengaktifasi protein kinase 5'-AMP yang bisa memodulasi berbagai enzim dan faktor yang bermanfaat bagi kesehatan (Ohishi et al., 2021). Hal tersebut berdampak positif pada peningkatan antioksidan salah satunya G-Px. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang & Hu (2021), dengan tikus yang mengonsumsi cuka apel sebanyak 1 mL per hari selama 7 minggu, dapat meningkatkan aktivitas dari glutathione peroksidase (G-Px). Menurut Yuliyanti et al., (2019) pemberian cuka apel selama 14 hari diharapkan dapat meningkatkan efek antioksidan dan mencegah penyakit kardiovaskular. Neurotransmitter yang berperan pada sifat adiksi dan gejala putus nikotin adalah serotonin, dopamin, dan noradrenalin (Tripathi &

Mazumder, 2022). Kandungan triptofan sebagai prekursor serotonin dalam cuka apel dimaksudkan untuk mengatasi efek balik akibat penghentian merokok bila timbul rangsangan ingin merokok (Johnston & Jasbi, 2021).

Berdasarkan uraian di atas dan masih terbatasnya publikasi mengenai fungsi cuka apel yang dapat membantu proses penghentian rokok, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penulis, maka pertanyaan penelitiannya adalah:

Apakah terdapat pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar yang hanya diberi pakan standar dan aquades.

1.3.2.2. Untuk mengetahui kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar pada program berhenti rokok yang hanya diberi pakan standar dan aquades.

1.3.2.3. Untuk mengetahui kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar pada program berhenti rokok yang diberi cuka apel.

1.3.2.4. Untuk mengetahui kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar pada program berhenti rokok yang diberi antioksidan selenium, dan SSRI.

1.3.2.5. Untuk mengetahui perbedaan kadar antioksidan glutathione peroksidase antar kelompok.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya dan terdapat pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok

1.4.2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok sehingga dapat digunakan sebagai pencegahan untuk mengurangi komplikasi penyakit paru-paru, jantung, dan penyakit sistemik lainnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)

2.1.1 Definisi Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)

Glutathione peroksidase (G-Px) adalah antioksidan enzimatik yang berperan dalam sebagai pelindung sel dari kerusakan yang disebabkan oleh reaksi stress oksidatif. G-Px mampu mendetoksifikasi hidrogen peroksidase (H_2O_2) dan lipid hidroperoksidase dengan mereduksi glutathione dan juga mencegah pembentukan radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk mejadi molekul yang kurang reaktif. G-Px menggunakan glutathione (GSH) sebagai koenzim dalam reaksi redoksnya (Flohé et al., 2022). Kadar antioksidan G-Px dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, meliputi:

a. Usia

Penelitian Post et al., (2018) menyatakan bahwa peningkatan usia berbanding lurus dengan kadar *Glutathione Oxidase* (GSSG) dan berbanding terbalik dengan kadar GSH di dalam lensa mata manusia. Hal tersebut dapat menyebabkan kapasitas antioksidan semakin berkurang, sehingga diperlukan upaya untuk mempertahankan kadar GP-x yang adekuat agar antioksidan di dalam lensa mata meningkat.

Usia tua terutama lebih dari 50 tahun dapat mempengaruhi tingginya stress oksidatif yang terjadi pada tubuh karena penumpukan radikal bebas. Hal ini terjadi karena bertambahnya usia selalu diikuti dengan penuaan sel tubuh (*aging*) sehingga kerja sel menjadi tidak optimal. Penuaan sel akan memengaruhi keseimbangan antioksidan dan prooksidan dalam tubuh. Produksi radikal bebas yang meningkat bisa berdampak terhadap menurunnya aktivitas antioksidan enzimatis G-Px secara signifikan (Neki, 2015).

b. Radikal bebas

Penumpukan radikal bebas dapat diakibatkan oleh adanya agen infeksius, paparan zat toksik, dan hipoksia. Paparan asap rokok yang terdapat kandungan tar juga termasuk dalam radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh. Jika radikal bebas menyebar secara menyeluruh pada tiap daerah yang mengalami inflamasi, akumulasi radikal bebas yang terjadi dapat menyebabkan cedera serius akibat perfusi sehingga bisa memperburuk kerusakan jaringan (Pei et al., 2023).

c. Zat Kimia

Zat racun dari bahan kimia dapat memicu adanya stress oksidatif. Proses terjadinya stress oksidatif terjadi pelepasan G-Px untuk melawan radikal bebas sehingga apabila kadar bahan kimia di tubuh tinggi, G-Px yang digunakan akan

semakin banyak dan menyebabkan menurunnya kadar G-Px di dalam tubuh. Zat kimia yang toksik dapat merusak keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan di dalam tubuh. Hal tersebut menyebabkan terjadinya peroksidase lemak di dalam membran lemak (Ighodaro & Akinloye, 2018).

d. Obesitas

Tubuh yang mengalami obesitas akan terjadi peningkatan pemasukan glukosa ke jaringan lemak. Sel endotel pada jaringan lemak meningkatkan uptake glukosa melalui transporter glukosa, sehingga terjadi hiperglikemia yang dapat meningkatkan aktivitas *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) oksidase dan juga memproduksi ROS. Peningkatan senyawa ROS dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang mengaktifkan sel proinflamasi makrofag dan mengeluarkan sitokin inflamasi seperti *Interleukin-6* (IL-6), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), adiponectin dan leptin. *Nuclear Factor kappa B* (NFkB) pada sitoplasma sel juga dapat meningkatkan aktivitas NADPH oksidase dan produksi ROS di dalam jaringan tubuh. Antioksidan G-Px yang berfungsi untuk melawan stress oksidatif akan mengalami penurunan (Jin, 2023).

e. Selenium

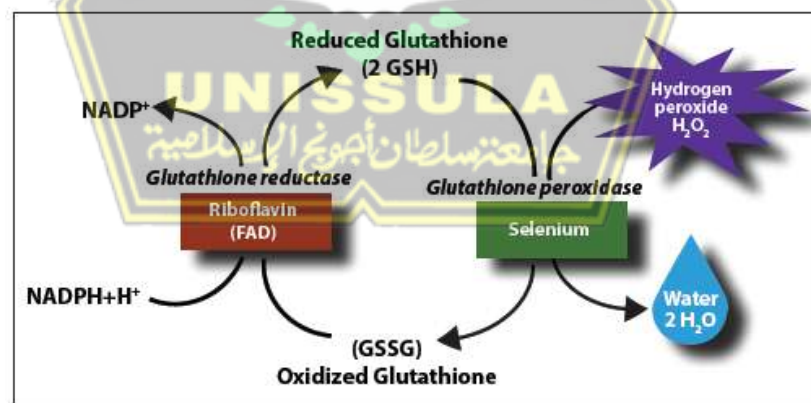
Selenium adalah komponen esensial dari selenoprotein yang merupakan bagian penting dari fungsi metabolic dan antioksidan. Selenoprotein mengandung *selenocysteine* yang termasuk dalam asam amino yang ke-21. Selenium berperan penting dalam struktur G-Px dan mempengaruhi semua komponen sistem imun, termasuk dalam perkembangan sel leukosit. Selenium plasma sebanyak 60% direpresentasikan sebagai selenoprotein P yang berfungsi untuk sebagai transportasi selenium ke jaringan. Selenoprotein P dapat memproteksi tubuh melawan hasil kerusakan jaringan yaitu *peroxynitrite* dan mengurangi fosfolipid hidroperoksidase (Zakeri, 2021).

Suplementasi selenium 100-200 mcg/hari, terbukti dapat mengatasi kekurangan G-Px dalam tubuh dan meningkatkan kekebalan tubuh dikarenakan dapat merangsang fungsi leukosit dan timus. Fungsi tersebut berkaitan dengan kemampuan selenium untuk meningkatkan ekspresi IL-2 sehingga proliferasi dan diferensiasi leukosit mampu membunuh sel tumor dan meningkatkan aktifitas sel *Natural Killer* (NK). Rendahnya kadar selenium dapat mendorong penurunan mood, depresi, kecemasan, dan kebingungan, sehingga suplementasi selenium dapat membantu

memperbaiki fungsi psikologis seseorang. (Pizzorno & Murray, 2020).

Nurkhasanah et al., (2023) menyebutkan bahwa antioksidan hanya akan berfungsi ketika ada senyawa prooksidan atau pemicu proses oksidasi hadir di dalam tubuh. Prooksidan dapat berasal dari antioksidan saponin, alkaloid, dan tannin yang terakumulasi dalam konsentrasi tinggi. Ketika dosis antioksidan dan prooksidan tidak seimbang atau kadar antioksidan tinggi sedangkan prooksidan rendah, maka tubuh akan membentuk senyawa prooksidan untuk menyeimbangkan kadarnya dengan antioksidan. Hal ini akan membuat sel-sel radikal bebas tidak bisa diperbaiki lagi.

2.1.2 Metabolisme Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)



Gambar 2.1 Reaksi Reduksi-Oksidasi Glutathione (GSH) (Ursini & Maiorino, 2013)

Antioksidan G-Px mengatalisis destruksi hidrogen peroksidase ($H_2 O_2$) dengan menggunakan glutathione tereduksi (GSH) menjadi air ($H_2 O$) dan O_2 untuk melindungi lipid membran dan hemoglobin.

GSH akan dioksidasi menjadi GSSG, agar GSH terus tersedia untuk membantu kerja G-Px maka GSSG harus direduksi lagi menjadi GSH yang dibantu oleh *Glutathione Reductase* (GR). Rasio intrasel dari GSSG menjadi GSH merupakan refleksi aktivitas enzim ini dan kemampuan sel untuk melakukan katabolisme radikal bebas. Senyawa H_2O_2 apabila tidak didekomposisi menjadi H_2O oleh G-Px atau antioksidan katalase (CAT), nantinya akan berubah radikal hidroksil (OH) yang merupakan salah satu produksi ROS. Produksi ROS yang berlebihan atau pembuangan yang tidak adekuat akan mengakibatkan akumulasi radikal bebas dalam sel yang akan merusak lemak, protein, dan asam deoksiribonukleat (DNA) yang berakibat terjadinya cedera sel (Vinay, 2013)

2.1.3 Cara Pengukuran Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)

Pengukuran kadar G-Px serum menggunakan metode *enzyme immunosorbent assay* (ELISA). Metode ELISA menggunakan pengukuran fotometrik intensitas warna pada panjang gelombang 340 nm. Satuan kadar G-Px yaitu U/mg (Yuniastuti & Susanti, 2013).

2.2 Cuka Apel

2.2.1 Definisi Cuka Apel

Cuka apel dihasilkan dari 2 proses fermentasi dimana bakteri dan ragi ditambahkan ke campuran sari apel yang dapat mengubah glukosa menjadi alkohol. Proses fermentasi kedua, alkohol diubah menjadi cuka

oleh bakteri pembentuk asam asetat yaitu *acetobacter* yang dapat memberikan rasa asam. (Martini, 2021).

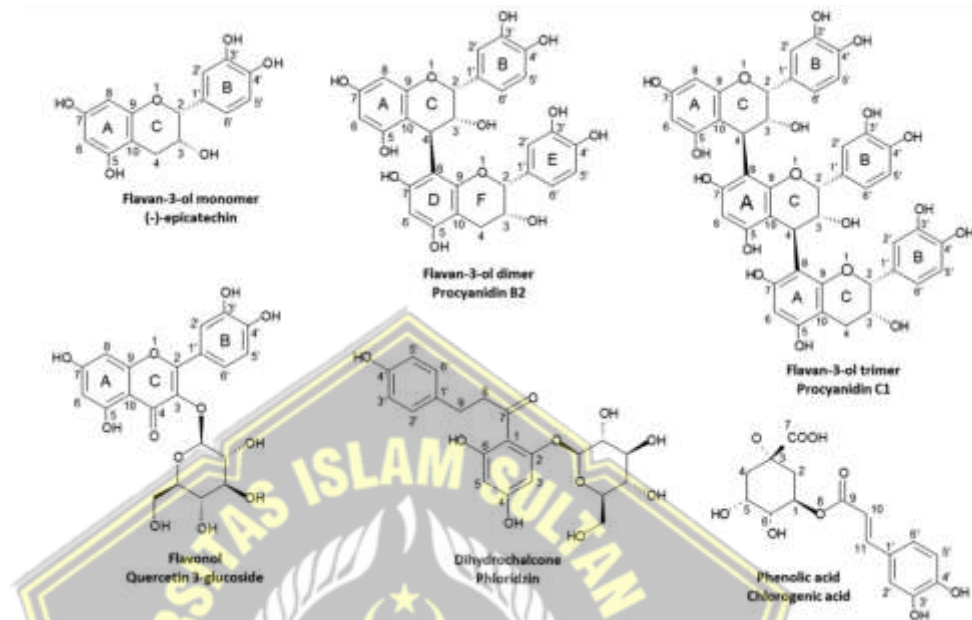
2.2.2 Proses Pembuatan Cuka Apel

Cuka apel menggunakan jenis apel fuji yang dihancurkan setelah dicuci bersih. Jus apel yang didapatkan kemudian ditambahkan enzim pectinase sebanyak 0.04% dan dihidrolisa pada suhu 45°C selama 1 jam lalu disterilkan pada suhu 90°C selama 1 menit. Setelah dihidrolisa akan terlihat dua bagian yang terpisah, pada bagian atas terdapat gumpalan senyawa pektin yang bercampur dengan udara, sedangkan pada bagian bawah merupakan sari buah apel yang jernih. Sari buah disaring dan bagian yang menggumpak dipres dan disaring. Untuk tahap fermentasi alkohol, 8% cairan ragi ditambahkan ke dalam 1000 ml jus apel lalu difermentasi pada suhu 24°C selama 8 hari. Setelah dilakukan fermentasi alcohol, jus apel ditambahkan larutan bakteri asam asetat 10% dan dicampur dengan kecepatan 120 rpm/menit pada suhu 28°C. Fermentasi asam asetat berlangsung selama 8 hari, lalu larutan jus apel disaring dan disterilkan. Produk akhir fermentasi disimpan dalam wadah kedap udara selama kurang lebih 7 hari untuk menghasilkan cuka apel (Song & Zhang, 2019).

2.2.3 Kandungan Cuka Apel

Cuka apel terdapat antioksidan polifenol seperti *gallic acid*, *catechin*, *epicatechin*, *chlorogenic acid*, *p-coumaric acid*, *ferulic acid*,

dan *caffeic acid* sebagai anti-inflamasi yang dapat melawan radikal bebas (Tripathi & Mazumder, 2022).



Gambar 2.2 Susunan kimia kelas polifenol (Mendoza-Wilson, 2016)

Kandungan dalam cuka apel bermanfaat sebagai antimikroba, antifungi, bahkan efektif untuk melawan virus SARS-CoV-2 yang menjadi penyebab pandemi COVID-19 (Abdali & Saghrouchni, 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Zhang & Hu (2021) menyatakan bahwa tikus yang mengonsumsi cuka apel sebanyak 1 mL per hari selama 7 minggu, dapat meningkatkan aktivitas dari *katalase* (CAT), *superoksidase dismutase* (SOD), dan G-Px. Terapi cuka apel sebanyak 4 mL/kg dapat menurunkan lipid peroksidase dan aktivitas CAT seiring dengan peningkatan SOD endogen. Kandungan dalam cuka apel dapat memodifikasi profil serum lipid, stress oksidatif dalam eritrosit dan juga membran liver pada tikus. Flavonoid yang diisolasi dari apel dapat mengurangi inflamasi yang dapat dilihat dari menurunnya marker

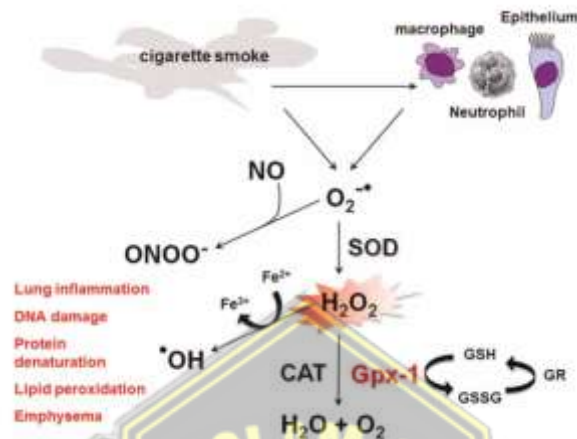
inflamasi seperti IL-11, IL-2 dalam jaringan usus tikus. Senyawa polifenol dalam apel dapat mengurangi respon inflamasi ginjal melalui penurunan ekspresi dan aktivitas COX-2 dalam tikus (Tripathi & Mazumder, 2020). Kandungan triptofan dalam cuka apel memiliki kaitan dengan neurotransmitter yang meredakan stress. Antioksidan asam indole-3-asetat mempunyai peran di sistem tubuh terutama otak yang bisa memproduksi serotonin (*5-hydroxytryptamine*, 5-HT) sebagai pengatur suasana hati dan rasa bahagia (Johnston & Jasbi, 2021).

2.3 Rokok

2.3.1 Kandungan Radikal Bebas dalam Rokok

Aktivasi makrofag, neutrophil dan epitel oleh asap rokok dapat menghasilkan radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) yang kemudian bereaksi dengan Nitrat Oksida (NO) untuk membentuk molekul peroksinitril yang reaktif ($ONOO^-$). Sementara itu, superoksida juga diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang bersifat merusak dengan pengaruh antioksidan SOD. Hasil berupa H_2O_2 dapat mengakibatkan terjadinya produksi radikal hidroksil (OH) secara non-enzimatik dengan bantuan dari Fe^{2+} . Antioksidan CAT dan G-Px bekerja sama secara enzimatik untuk membantu mengurangi H_2O_2 dengan mengurai menjadi air dan oksigen. G-Px menggunakan GSH sebagai kofaktor untuk membentuk GSSG yang kemudian direduksi oleh Glutathione Reduktase (GR). ROS $O_2^{\bullet-}$, $ONOO^-$, H_2O_2 , dan $\bullet OH$ jika dibiarkan di tubuh dapat menyebabkan radang paru-paru, kerusakan

DNA, denaturasi protein, lipid peroksidasi, dan emfisema. Penjelasan tersebut dapat dijelaskan pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Efek ROS dalam Rokok terkait Antioksidan (Vlahos & Bozinovski, 2013)

Kandungan dari asap rokok terdiri dari tar, nikotin, dan karbon monoksida yang dapat menyebabkan ROS sehingga dapat terjadi banyak gangguan kesehatan (Emma et al., 2018). Asap rokok merupakan sumber radikal bebas dan aldehyd yang menyebabkan stress oksidatif dan kerusakan paru-paru dan jaringan lain. Paparan asap rokok dalam waktu lama dapat menyebabkan lipid peroksidasi sistemik dan penipisan antioksidan seperti vitamin A, C dan Glutathione peroksidase dalam plasma dan mengaktifkan respon inflamasi seperti protein C-reaktif, fibrinogen, dan IL-6. Efek stress oksidatif pada perokok dapat berkontribusi pada peningkatan resiko berbagai penyakit seperti Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK), penyakit kardiovaskular, dan kanker (Mons et al., 2016).

Asap rokok terbagi menjadi *mainstream smoke* dan *sidestream smoke*, yang keduanya sama – sama membawa radikal bebas dalam jumlah besar. *Mainstream smoke* dihasilkan saat menghisap rokok, dapat dihirup langsung dari filter/ujung rokok ke dalam rongga mulut dan turun ke saluran pernapasan. *Sidestream smoke* terbentuk dari pembakaran sebatang rokok dari ujung yang menyala dan asap yang dihasilkan diantara isapan. Asap rokok memiliki dua fase, yaitu fase tar dan fase gas yang keduanya mengandung sejumlah besar radikal bebas. Radikal bebas yang terkandung, seperti karbon⁻, nitrogen⁻, dan radikal oksigen (*semiquinone*, *hydroxyl*, dan *superoxide radicals*) (Caliri et al., 2021).

2.3.2 Kandungan Nikotin dalam Rokok

Kandungan nikotin dalam rokok menjadi penyebab utama adiksi dibandingkan zat lainnya seperti kokain, morfin, kafein. Nikotin menyebabkan seseorang kembali merokok meskipun telah mengalami berbagai penyakit, karena mempengaruhi perasaan, pikiran, dan fungsi tingkat seluler. Nikotin dapat terekstraksi dari tembakau dan masuk ke sirkulasi arteri sistemik terutama di dalam otak sebesar 10 kali lipat dalam waktu 4-10 detik setelah menghisap rokok. Nikotin akan berdifusi secara cepat ke jaringan otak, kemudian terikat dengan reseptor asetilkolin nikotinic (nAChRs) subtipe $\alpha 4\beta 2$ dan melepaskan dopamin yang memberikan rasa nyaman (Emma et al., 2018). Pencitraan otak menunjukkan bahwa nikotin secara akut meningkatkan

antivitas otak di lobus prefrontal, korteks, thalamus, dan system visual. Adanya aktivasi dari *extrahypothalamic corticotropin-releasing factor* dapat memunculkan gejala putus nikotin karena lepas di nukleus inti amigdala. Penelitian Monroe et al., (2021) mengatakan bahwa perokok memiliki peluang 2 kali lebih tinggi mengalami gangguan panik dan depresi berat. Perokok merasa lebih cemas dan mudah terjadi serangan panik daripada bukan perokok. Perokok saat berhenti merokok seketika terjadi peningkatan tingkat kecemasan dan stress dikarenakan tidak ada asupan nikotin yang memiliki efek ansiolitik atau dapat meredakan kecemasan. Rokok memiliki sifat adiktif yang tinggi sehingga sulit untuk di terapi dan memiliki tingkat kekambuhan yang tinggi. Rasa ingin untuk berhenti rokok dilaporkan sangat rendah yaitu sekitar 22% setelah 6 bulan program penghentian rokok (Le Foll & Piper, 2022).

Gejala putus nikotin ditandai dengan gejala emosi yang menurun, cemas, sulit berkonsentrasi, perubahan nafsu makan, penurunan berat badan, gangguan tidur, dan stress yang meningkat (Syifa Nabila et al., 2017). Pada tikus gejala putus nikotin dapat dilihat dari perubahan perilaku seperti agitasi, kedipan mata, geliat, dan ptosis mata (Chellian et al., 2021). Terdapat bukti bahwa gejala putus obat berkontribusi terhadap keinginan untuk kembali merokok. Mayoritas orang yang mencoba berhenti merokok kembali ingin merokok pada minggu pertama ketika gejala putus nikotin paling berat. Analisis kurva kekambuhan perokok yang berhenti merokok dan tanpa pengobatan

menunjukkan bahwa 49%–76% perokok kambuh dalam satu minggu, 72%–85% dalam 1 bulan, dan 80%–90% dalam 3 bulan (Chellian et al., 2023).

2.3.3 Terapi Penghentian Merokok

Proses penghentian rokok dapat menggunakan metode farmakologi yang telah diakui *Food Drug Administration* (FDA). Medikasi obat penghentian rokok terdapat 7 kategori, 5 obat diantaranya mengandung nikotin NRT antara lain nikotin patch, permen karet, lozeng, semprot hidung, dan inhaler oral. Obat non-nikotin lainnya yaitu bupropion dan varenicline (Garcia-Gomez et al., 2019). Penanganan dengan obat-obatan bertujuan untuk memblokir efek kuat dari nikotin dan mengurangi gejala putus nikotin seperti depresi, gelisah, cemas, sensitif, peningkatan nafsu makan, dan kurangnya konsentrasi (Department of Health et al., 2020).

Terapi lini pertama yang disetujui oleh FDA adalah obat non-NRT varenicline dan bupropion. Keduanya memiliki efek samping yaitu mual, muntah, dan neuropsikiatri. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa tidak ada perbedaan signifikan yang ditemukan antara tingkat keberhasilan terapi dengan varenicline dengan bupropion (Benli, 2017). Obat NRT clonidine dan nortriptyline merupakan obat lini kedua untuk terapi penghentian rokok. Efek samping dari keduanya antara lain mulut kering, pusing, sedasi atau timbulnya rasa tenang dan kantuk, tangan gemetar, dan sembelit. Penggunaan clonidine dan nortriptyline

masih terbatas mengingat efek samping yang banyak dibandingkan obat non-NRT, namun masih bisa dipertimbangkan untuk digunakan apabila obat lini pertama tidak menunjukkan keberhasilan. Mekanisme kerja dari obat NRT nortriptyline yaitu dengan memblokir pompa reuptake norepinefrin (NET) dan serotonin (SERT) dengan sedikit atau tanpa tindakan pada pompa reuptake dopamine (DAT). Obat ansiolitik lainnya yang direkomendasikan untuk terapi penghentian rokok yaitu buspirone dan ondansetron. Buspirone merupakan obat anti kecemasan non-benzidiazepin yang menarget neurotransmitter serotonin, sedangkan ondansetron adalah reseptor antagonis dari serotonin 5-hydroxytryptamine 3 (5-HT₃) yang bisa mengurangi efek putus nikotin (Pajai et al., 2023).

Serotonin Selective Reuptake Inhibitor (SSRI) adalah obat antidepresan yang mekanismenya menghambat pengambilan serotonin yang telah disekresikan dalam sinap atau gap dalam neuron, sehingga kadar serotonin dalam otak meningkat (Wahyuni & Rachmani, 2020) . SSRI berperan untuk menurunkan gejala putus nikotin sehingga menurunkan sifat adiktif yang timbul pada perokok. Obat antidepresan SSRI diantaranya golongan SSRI seperti Fluoxetine, Citalopram, Escitalopram, Paroxetine, dan Sertraline. Fluoxetine merupakan antidepresan yang memiliki waktu paruh yang lebih panjang dibandingkan dengan antidepresan SSRI yang lain, sehingga dapat

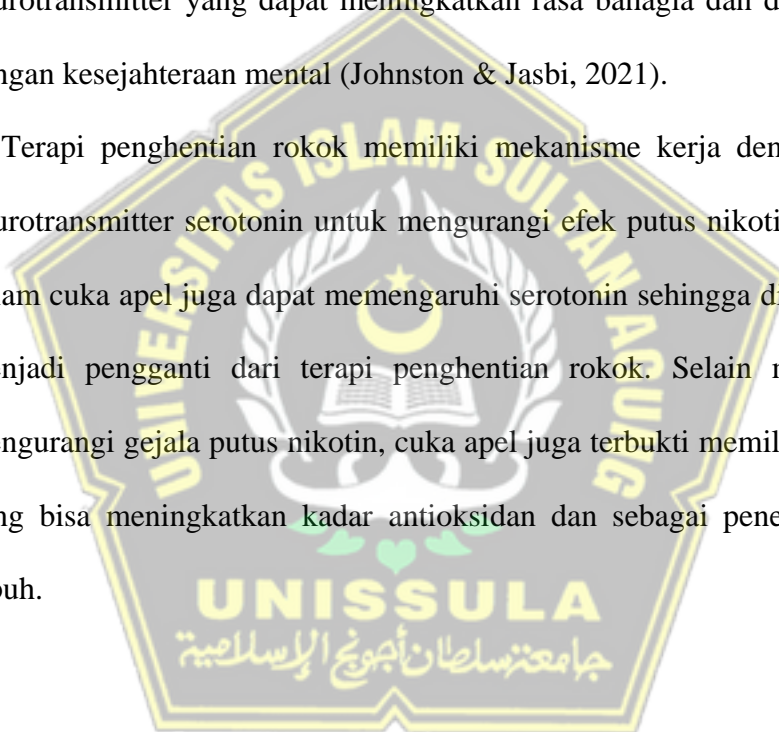
digunakan satu kali sehari. Dosis pemberian fluoxetine adalah 20 mg/hari (M S Sirait & Tjandra, 2023).

2.4 Hubungan antara cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus program penghentian rokok

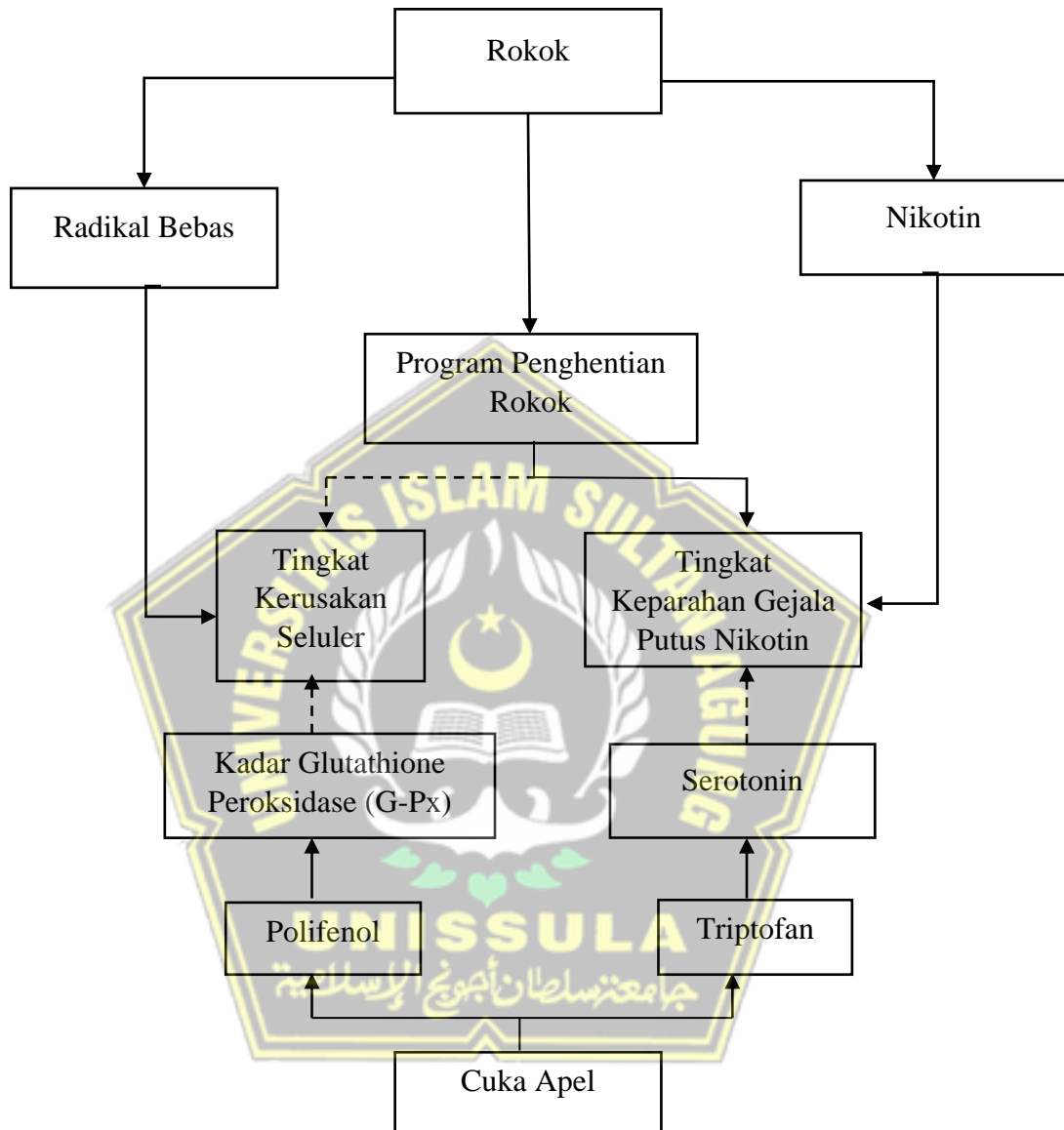
Asap rokok dapat menghasilkan radikal bebas yang berakibat buruk bagi tubuh. Paparan radikal bebas yang berlebihan menyebabkan disfungsi dari endotel dan berakibat pada penyakit vaskular. Sifat radikal bebas dapat menyebabkan stress oksidatif. Hal ini karena adanya ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas. Tubuh saat memiliki terdapat kadar radikal bebas yang berlebihan sedangkan jumlah antioksidan lebih sedikit dapat menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas dapat dikendalikan dengan antioksidan G-Px yang bisa meminimalisir efek negatifnya, sehingga G-Px dapat dijadikan parameter terjadinya stress oksidatif. Antioksidan G-Px memiliki manfaat besar sebagai pelindung sel dari hidroksil bebas radikal bebas yang berpusat pada DNA sel. Penelitian sebelumnya menyebutkan kandungan aerosol pada rokok dapat menurunkan kadar G-Px secara signifikan (K. H. Alzoubi et al., 2022). Kadar antioksidan G-Px yang menurun dapat diakibatkan oleh reaksi ROS oleh asap rokok, maka diperlukan kandungan antioksidan tambahan untuk mengompensasi dari turunnya antioksidan. Cuka apel terdapat kandungan senyawa polifenol yang bisa meningkatkan kadar antioksidan dalam tubuh terutama akibat aktifitas ROS karena asap rokok (Ayoub et al., 2015).

Program penghentian rokok, kadar nikotin yang mencapai reseptor di otak menurun dan menyebabkan penurunan pelepasan dopamin dan neurotransmitter glutamate sehingga terjadi gejala putus nikotin seperti gelisah, perubahan nafsu makan, dan sakit kepala. Kadar nikotin mulai menurun jika tidak ada paparan dari luar selama 3 hari sampai 2 minggu. Triptofan adalah prekursor dari serotonin, dimana merupakan neurotransmitter yang dapat meningkatkan rasa bahagia dan dapat dikaitkan dengan kesejahteraan mental (Johnston & Jasbi, 2021).

Terapi penghentian rokok memiliki mekanisme kerja dengan menarget neurotransmitter serotonin untuk mengurangi efek putus nikotin. Kandungan dalam cuka apel juga dapat memengaruhi serotonin sehingga diharapkan bisa menjadi pengganti dari terapi penghentian rokok. Selain manfaat dapat mengurangi gejala putus nikotin, cuka apel juga terbukti memiliki kandungan yang bisa meningkatkan kadar antioksidan dan sebagai penekan inflamasi tubuh.



2.5 Kerangka Teori



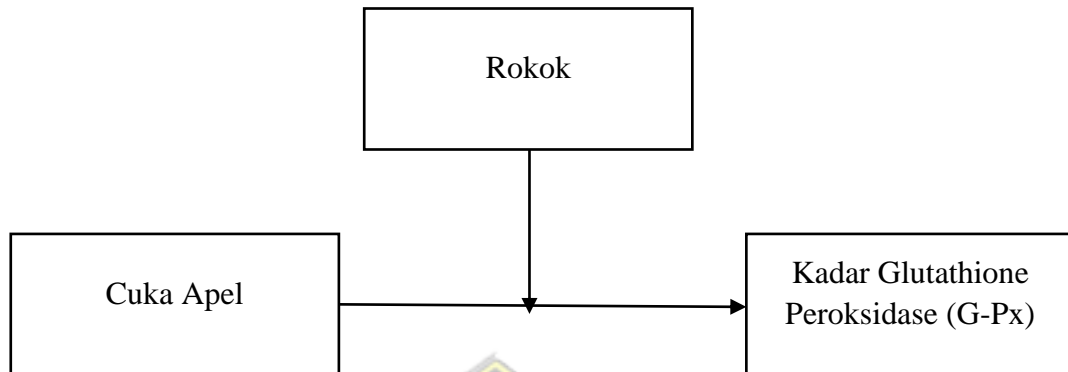
Gambar 2.4 Kerangka Teori

Keterangan :

———— : Menyebabkan

- - - - - : Menghambat

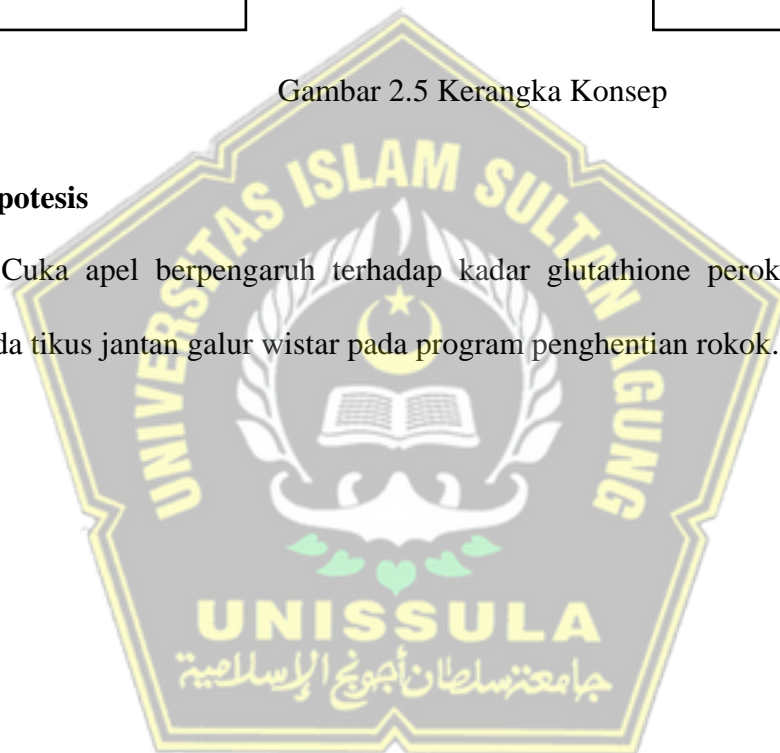
2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

Cuka apel berpengaruh terhadap kadar glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok.

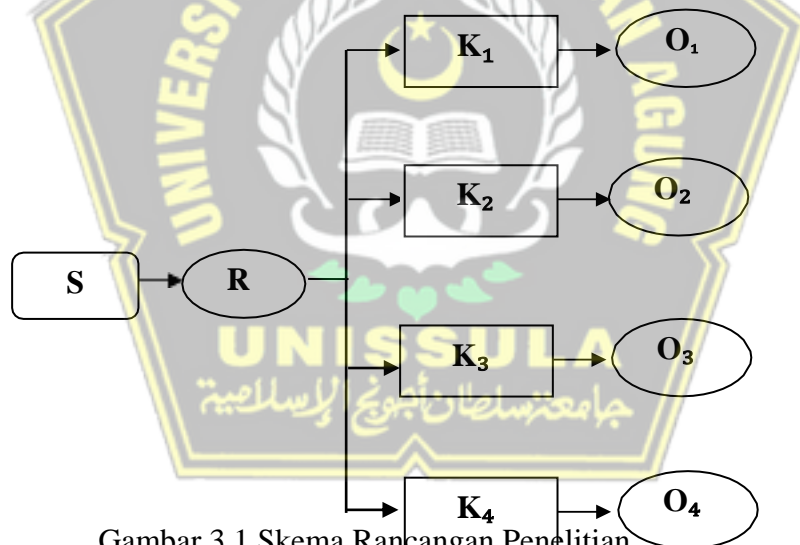


BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba di laboratorium dengan desain penelitian *post test only control group design* terhadap 24 ekor tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan seperti yang tertera pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = Sampel berupa tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) sejumlah 24 ekor.

R = Randomisasi.

K₁ = terdiri atas 6 ekor tikus sebagai kelompok normal

K_2 = terdiri dari 6 ekor tikus yang diberikan paparan asap rokok selama 4 minggu dan dilanjutkan pemberian aquades selama 2 minggu akhir

K_3 = terdiri dari 6 ekor tikus yang diberikan paparan asap rokok selama 4 minggu dan dilanjutkan pemberian cuka apel selama 2 minggu akhir.

K_4 = terdiri dari 6 ekor tikus yang diberikan paparan asap rokok selama 4 minggu dan dilanjutkan pemberian antioksidan selenium dan SSRI selama 2 minggu akhir.

O_1 = Observasi kelompok I. Tikus hanya diberikan pakan standar dan aquades.

O_2 = Observasi kelompok II. Tikus yang diberikan paparan asap rokok selama 4 minggu dan dilanjutkan pemberian aquades selama 2 minggu akhir.

O_3 = Observasi kelompok III. Tikus yang diberikan paparan asap rokok selama 4 minggu dan dilanjutkan pemberian cuka apel selama 2 minggu akhir.

O_4 = Observasi kelompok IV. Tikus yang diberikan paparan asap rokok selama 4 minggu dan dilanjutkan pemberian antioksidan selenium dan SSRI selama 2 minggu akhir.

3.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel Penelitian

3.2.1.1 Variabel Bebas

Cuka apel

3.2.1.2 Variabel Tergantung

Kadar glutathione peroksidase (G-Px)

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Cuka Apel

Cuka apel pada penelitian ini menggunakan cuka apel “T” yang berasal dari apel Anna dengan keasaman 5% yang memiliki kandungan polifenol berupa dan antosianin dan asam asetat. Kadar cuka apel yang diberikan sebanyak 0,54 ml/200grBB satu kali sehari.

Skala : Nominal

3.2.2.2 Kadar glutathione peroksidase (G-Px)

Kadar glutathione peroksidase sebagai parameter cuka apel dalam mengendalikan terjadinya stress oksidatif karena radikal bebas dalam asap rokok.

Skala : Rasio

3.3 Subjek uji

Penelitian ini menggunakan subjek uji tikus *Rattus norvegicus*. Sampel dalam penelitian ini menggunakan tikus sebanyak 24 ekor dan terdapat 4

kelompok perlakuan setiap kelompok terdapat 6 ekor hewan uji dalam penelitian ini.

(Hanafiah, 2016) menyebutkan bahwa besar sampel yang dihitung menggunakan rumus *Federer* sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) > 15$$

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 15+3$$

$$3n \geq 18$$

$$N \geq 18/3$$

$$N \geq 6$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok uji

n : Besar sampel per kelompok

Besar sampel ideal menurut perhitungan dengan rumus *Federer* diatas adalah 6 ekor tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). Dengan demikian jumlah kelompok uji secara keseluruhan adalah 24 ekor.

3.3.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan galur wistar yang sehat dan gerak aktif
2. Tikus dengan berat 150 – 200 gram
3. Tikus berumur 2-3 bulan

4. Tidak ada kelainan anatomis

3.3.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang mengalami penurunan berat badan dan obesitas sebanyak 20% dari berat badan awal

3.3.3 Kriteria Drop out

1. Tikus mati atau sakit selama penelitian berlangsung

3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1 Instrumen Penelitian

- a. Timbangan analitik
- b. Gelas beker
- c. Gelas ukur
- d. Kandang tikus lengkap dengan tempat pakan dan minumannya
- e. *Smoke Chamber*
- f. Waterbath 37°C
- g. Spektrofotometer panjang gelombang 340 nm
- h. Tabung sentrifuge
- i. Tabung hematokrit
- j. Spuit 1 cc
- k. Alat sentrifuge
- l. Mikropipet
- m. *BioVision G-Px Kit*

3.4.2 Bahan Penelitian

- a. 5 mL plasma darah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*)

- b. Cuka apel
- c. Pakan standar pellet BR-II
- d. Aquades
- e. 100 lusin batang rokok
- f. Obat Fluoxetin (SSRI)
- g. Suplemen selenium
- h. Reagent :
 - a) Assay Buffer pH 7.0
 - b) NADPH Reagent (lyophilized)
 - c) Substrate H₂O₂

3.5 Cara Penelitian

3.5.1. Penyiapan Hewan Coba

Tikus jantan galur wistar dipilih secara acak 24 ekor kemudian hewan coba diadaptasikan selama 7 hari dengan lingkungan dan diberi pakan standar serta aquades supaya tidak mengalami stress. Hewan coba kemudian dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 6 ekor. Setiap kelompok dilakukan pemaparan asap rokok menggunakan rokok kretek selama 4 minggu. Rokok dinyalakan tiap pukul 10.00 dengan jumlah batang rokok 4 batang per hari dengan durasi masing-masing 4 jam. Batang rokok dimasukkan ke dalam *smoke chamber* yang sudah diberi lubang sebagai tempat rokok.

3.5.2. Pembuatan Larutan Selenium dan Obat SSRI

Disiapkan selenium dengan dosis 1,8 $\mu\text{g}/200\text{grBB}$ dan dilarutkan dengan aquades hingga volume 2 ml untuk 1 tikus . Untuk obat SSRI (*Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*) fluoxetin dosis yang diperlukan oleh manusia dewasa (70 kg) adalah 20 mg. Konversi dosis untuk tikus berbobot 200 gram adalah 0,018 sehingga dosis fluoxetine yang diberikan oleh tikus adalah 0,36 mg/200grBB (M S Sirait & Tjandra, 2023).

3.5.3. Perlakuan Hewan Coba

3.5.3.1. Kelompok I

Tikus jantan galur wistar diberi pakan standar BR-2 dan aquades hingga hari ke-42. Pada hari ke 43 dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar antioksidan G-Px.

3.5.3.2. Kelompok II

Tikus jantan galur wistar diberi pakan standar BR-2 dan aquades dan dipapar asap rokok selama 4 minggu masing-masing 4 jam. Hari ke 29 paparan asap rokok dihentikan. Hari ke 30 mulai diberikan aquades 2 ml/ekor pada pukul 12.00 menggunakan mikropipet selama 2 minggu. Hari ke 43 dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar antioksidan G-Px.

3.5.3.3. Kelompok III

Tikus jantan galur wistar diberi pakan standar BR-2 dan aquades dan dipapar asap rokok selama 4 minggu masing-masing 4 jam. Hari ke 29 paparan asap rokok dihentikan. Hari ke 30 mulai diberikan cuka apel 0,54 ml/200gr pada pukul 12.00. Cuka apel diberikan secara per oral menggunakan mikropipet selama 2 minggu. Hari ke 43 dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar antioksidan G-Px.

3.5.3.4. Kelompok IV

Tikus jantan galur wistar diberi pakan standar BR-2 dan aquades dan dipapar asap rokok selama 4 minggu masing-masing 4 jam. Pada hari ke 29 paparan asap rokok dihentikan. Hari ke 30 mulai diberikan antioksidan selenium dengan dosis 1,8 µg/200grBB dan fluoxetin 0,36 mg pada pukul 12.00. Cuka apel diberikan secara per oral menggunakan mikropipet selama 2 minggu. Pada hari ke 43 dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar antioksidan G-Px.

3.5.4. Cara Pengukuran Kadar Antioksidan Glutathione Peroksidase

Pengambilan darah dilakukan menggunakan mikrohematokrit melalui tusukan ke bagian medial dari mata (sinus orbitalis) hewan uji. Darah yang didapat kemudian disentrifugasi dengan kecepatan

4000 RPM selama 10 menit dalam suhu 4°C, lalu diambil serum plasma darah menggunakan mikropipet. Serum plasma dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm.

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

3.6.1. Tempat Penelitian

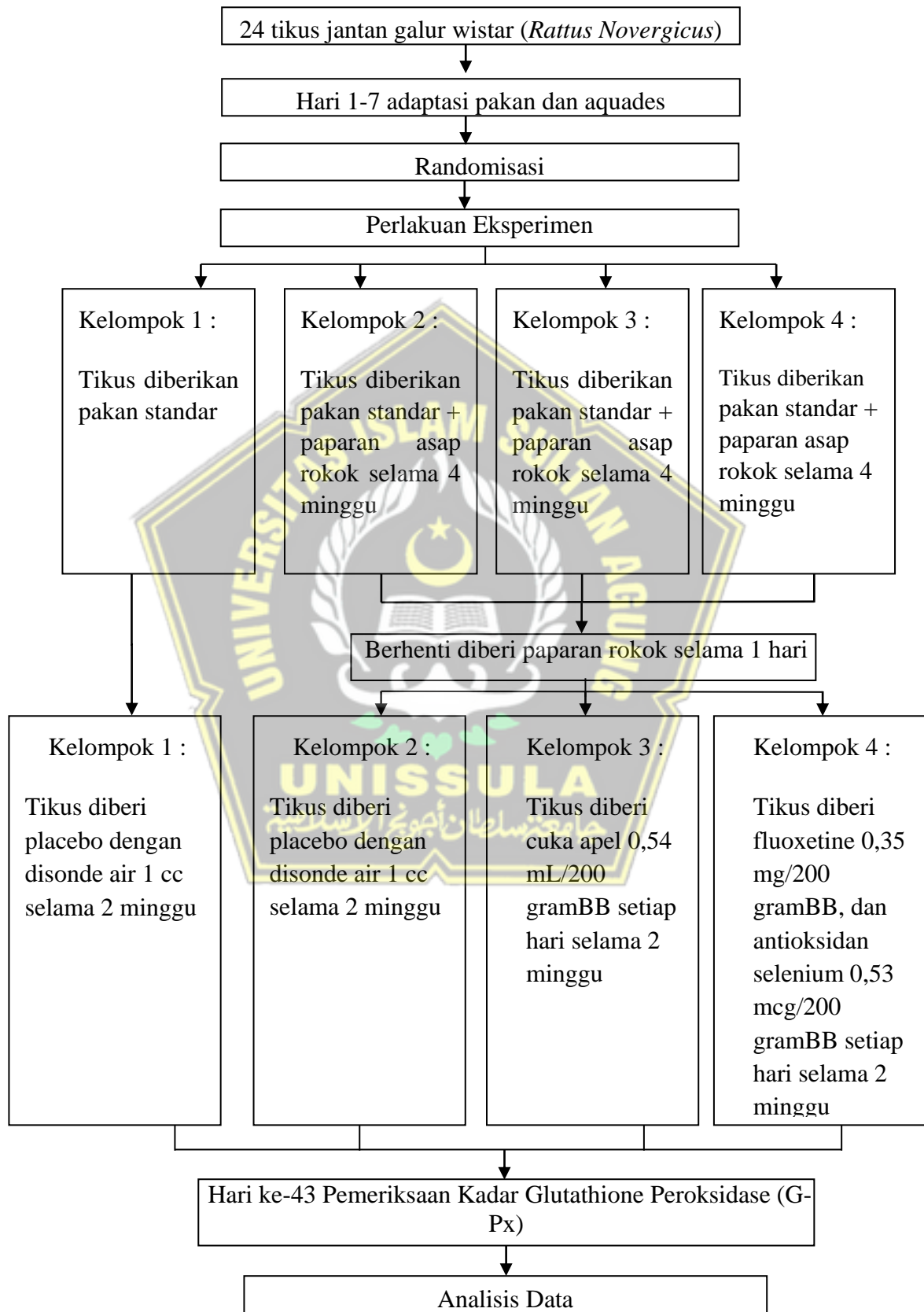
Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada

3.6.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal November 2023 – Desember 2023



3.7 Alur Penelitian



3.8 Analisis Hasil

Analisis data menggunakan *software* pengolahan data. Data kadar antioksidan *glutathion peroksidase* (G-Px) sesudah perlakuan (*Post test only control group design*). Skala data variabel kadar cuka apel adalah nominal dan kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) adalah rasio, terdapat empat kelompok tidak berpasangan dan hipotesis merupakan komparatif sehingga dilakukan uji parametrik distribusi data normal dan varian data homogen. Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro wilk* (sampel<30) dan uji homogenitas menggunakan *Levene's Test*. Uji *Shapiro-Wilk* dan uji *Levene's Test* didapatkan hasil $p>0,05$ maka data normal dan homogen, sehingga uji beda antar kelompok menggunakan uji parametrik *One Way Anova*.

Uji *One Way Anova* didapatkan hasil $p<0,05$ maka hasilnya adalah menerima H_1 dan menolak H_0 sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada keempat kelompok. Uji *Post-hoc LSD* dilakukan untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan dan didapatkan hasil $p<0,05$ maka pasangan kelompok menunjukkan perbedaan kadar antioksidan glutathione peroksidase yang signifikan.

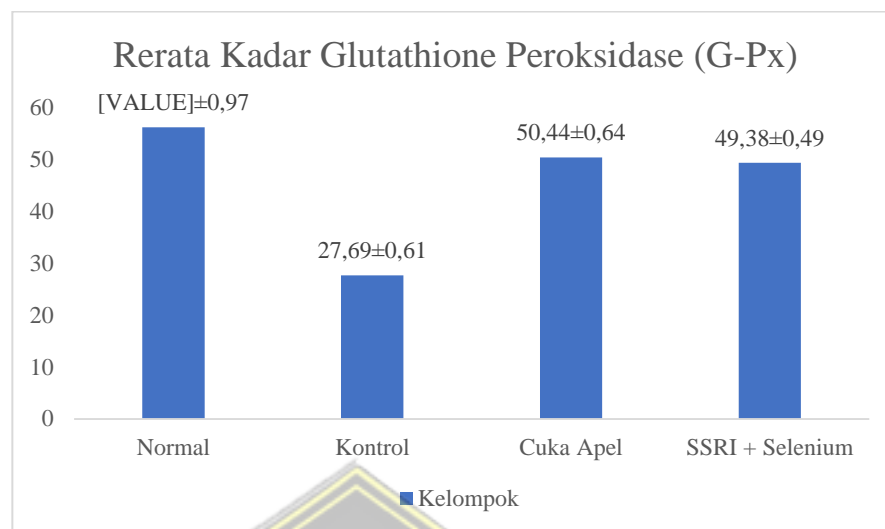
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok telah dilakukan secara experimental terhadap 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok uji secara dengan desain *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada tanggal 1 Desember 2023 sampai 29 Januari 2024. Seluruh tikus tidak ada yang mengalami *drop out* sehingga dapat dianalisis hingga akhir.

Seluruh tikus jantan galur wistar dalam penelitian ini dilakukan adaptasi selama 1 minggu dengan pemberian pakan standar. Tikus kemudian dirandomisasi dan dibagi kedalam 4 kelompok, kelompok normal (hanya diberi pakan standar), kelompok kontrol negatif (dipapar asap rokok dilanjutkan aquades), kelompok perlakuan (dipapar asap rokok dilanjutkan cuka apel), kelompok kontrol positif (dipapar asap rokok dilanjutkan SSRI & selenium). Proses paparan asap rokok dilakukan selama 4 minggu dilanjutkan proses perlakuan sesuai kelompok selama 2 minggu. Kadar glutathione peroksidase (G-Px) keempat kelompok diperiksa pada hari ke-43. Deskripsi hasil pengukuran kadar G-Px ditunjukkan pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Diagram Batang Rerata Kadar Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px) pada Semua Kelompok

Berdasarkan data pada gambar 4.1 didapatkan rerata kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada kelompok cuka apel ($50,44 \pm 0,64$ pg/ml) lebih tinggi dibandingkan rerata kelompok kontrol ($27,69 \pm 0,61$ pg/ml) dan kelompok SSRI + selenium ($49,38 \pm 0,49$ pg/ml), namun tetap lebih rendah dibandingkan rerata kelompok normal ($56,24 \pm 0,97$ pg/ml). Rerata kadar G-Px pada kelompok SSRI + selenium ($49,38 \pm 0,49$ pg/ml) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ($27,69 \pm 0,61$ pg/ml) tetapi masih lebih rendah dibandingkan rerata kelompok normal ($56,24 \pm 0,97$ pg/ml) dan kelompok cuka apel ($50,44 \pm 0,64$ pg/ml). Data kadar glutathione peroksidase (G-Px) kemudian dianalisis distribusi dan varian datanya menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji *Levene*. Hasil analisis distribusi dan varian datanya dapat dilihat pada tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Hasil Uji Statistik Rerata Kadar Antioksidan Glutathione Peroksidase (G-Px)

Kelompok	Rerata kadar G-Px (pg/ml)	Shapiro-Wilk	Levene Statistic
Normal	56,24±0,97	0,774*	
Kontrol	27,69±0,61	0,710*	
Cuka Apel	50,44±0,64	0,354*	0,343*
SSRI & Selenium	49,38±0,49	0,986*	

* $p > 0,05$ dinyatakan distribusi normal dan homogen

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa keempat kelompok uji mempunyai distribusi data normal yang ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$ pada uji *Shapiro Wilk* dan pada uji *Levene* diketahui nilai p sebesar 0,343 ($p > 0,05$) sehingga varian data homogen. Uji *One Way Anova* selanjutnya dilakukan karena hasil uji distribusi dan varian data terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji *Oneway Anova* dapat dilihat pada tabel 4.2. berikut.

Tabel 4.2 Hasil Uji *One Way Anova*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2827,640	3	942,547	1902,232	0,000
Within Groups	9,910	20	0,495		
Total	2837,550	23			

Hasil uji *One Way Anova* didapatkan nilai p 0,000 ($p < 0,05$) sehingga didapatkan arti bahwa terdapat perbedaan kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) yang signifikan antar kelima kelompok uji. Hasil analisis uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan rerata antar dua kelompok dan ditunjukkan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Uji *Post hoc LSD* terhadap Kadar Antioksidan Glutathione peroksidase (G-Px) pada Keempat Kelompok

Kelompok	Normal	Kontrol	Cuka Apel	SSRI & Selenium
Normal	-	0,000*	0,000*	0,000*
Kontrol	0,000*	-	0,000*	0,000*
Cuka Apel	0,000*	0,000*	-	0,016*
SSRI & Selenium	0,000*	0,000*	0,016*	-

**p<0,05 dinyatakan beda signifikan

Hasil uji *Post Hoc LSD* didapatkan nilai p<0,05 yang berarti bahwa adanya perbedaan yang bermakna antara rerata kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada kelompok normal dan kontrol (p=0,00); normal dan cuka apel (P=0,00); normal dan SSRI + selenium (p=0,00); kontrol dan cuka apel (p=0,00); kontrol dan SSRI + selenium (p=0,00); cuka apel dan SSRI + selenium (p=0,016). Berdasarkan data di atas dapat disimpulkan bahwa kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) antar kelompok berbeda signifikan.

4.2 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan asap rokok sebanyak 4 batang/hari selama 4 minggu menunjukkan penurunan antioksidan G-Px secara signifikan. Hal ini terlihat dari kadar G-Px kelompok kontrol yang lebih rendah secara signifikan daripada kelompok normal. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya dimana tikus yang diberi perlakuan paparan asap rokok dapat menyebabkan penurunan konsentrasi antioksidan G-Px dan katalase (Putri Agustin et al., 2021). Caliri et al., (2021) menyebutkan bahwa penurunan secara signifikan pada antioksidan SOD dan G-Px di dalam eritrosit perokok

dibandingkan dengan bukan perokok, menunjukkan bahwa ROS yang berasal dari asap rokok menyebabkan kejenuhan enzim antioksidan sehingga menyebabkan penurunan bioavailabilitasnya. Penelitian ini menggunakan paparan asap rokok untuk memunculkan gejala putus nikotin pada tikus jantan galur wistar. Hal ini sejalan dengan penelitian Chellian et al., (2021) di mana induksi asap rokok pada tikus dapat digunakan sebagai model ketergantungan nikotin ditunjukkan dengan peningkatan densitas non- $\alpha 7$ nAChR di hipokampus.

Perokok menghirup *sidestream cigarette smoke* sebanyak 85% di dalam ruangan. Asap rokok *sidestream* yang terbentuk dari pembakaran sebatang rokok dari ujung yang menyala dan asap yang dihasilkan diantara isapan dapat meningkatkan fase tar mengandung sejumlah besar radikal bebas. Radikal bebas yang terkandung terdiri dari dibensokarbol, nitrosamine, nikel, arsen yang menimbulkan kerusakan oksidatif pada membran sel, asam nukleat, protein, lipid, dan juga menyebabkan gangguan pada homeostasis seluler. Pada G-Px terjadi penurunan kadar karena bertugas menjaga kestabilan sel dari stress oksidatif yang disebabkan oleh ROS akibat paparan asap rokok (Caliri et al., 2021).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian cuka apel berpengaruh meningkatkan kadar G-Px pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok. Hasil ini dibuktikan dengan adanya perbedaan rerata kadar G-Px pada kelompok cuka apel yang lebih tinggi secara signifikan daripada kelompok kontrol. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa konsumsi cuka apel pada tikus dapat meningkatkan antioksidan seperti G-Px, SOD, dan

katalase dari 15% menjadi 66% setelah dibandingkan dengan kelompok control (Abdali & Saghrouchni, 2023). Rahmawati et al., (2018) menyebutkan bahwa cuka apel dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA) hepar tikus wistar, dimana kadar MDA menjadi indikator stress oksidatif. Tinggi rendahnya kadar MDA dipengaruhi oleh status antioksidan dalam tubuh. Senyawa antioksidan alami termasuk flavonoid dalam cuka apel diduga dapat melawan kondisi stres oksidatif dalam tubuh (Halima & Sonia, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Zhang & Hu (2021) menyatakan bahwa tikus yang mengonsumsi cuka apel dapat meningkatkan aktivitas dari katalase (CAT), *superoksidase dismutase* (SOD), dan G-Px.

Efektifitas pemberian cuka apel dalam meningkatkan kadar G-Px pada tikus pada program penghentian rokok secara statistik lebih baik daripada kombinasi SSRI + selenium. Hal ini dapat terlihat dari hampir setaranya kadar G-Px kelompok cuka apel dengan kelompok SSRI + selenium dan kelompok normal. Kandungan asam asetat dan flavonoid dalam cuka apel dapat berperan sebagai pelindung dalam sistem pertahanan seluler terhadap stress oksidatif yang disebabkan oleh ROS. Cuka apel dapat menjadi antioksidan yang bisa meningkatkan kadar antioksidan endogen seperti G-Px (Halima & Sonia, 2018). Kelompok cuka apel memiliki kadar G-Px lebih tinggi dibandingkan kelompok SSRI + selenium. Hal ini dikarenakan manfaat polifenol dalam cuka apel lebih kompleks dapat menjadi antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan, sedangkan selenium hanya berperan sebagai antioksidan (Tripathi & Mazumder, 2022)

Abdali et al., (2023) sebelumnya menyebutkan bahwa kandungan polifenol pada cuka apel dapat menjadi antidepresan. Naringenin dan asam klorogenik dapat menjadi modulator monoaminergik, neurotransmisi noradrenergik, serotoninergik, dan dopaminergik di otak yang menimbulkan efek antidepresan pada model hewan yang mengalami depresi. Selain itu, dalam cuka apel terdapat 3 subkelas flavonoid yang berkontribusi dalam aktifitas antidepresan, yaitu flavonol, isoflavonol, dan flavan3-ol. Polifenol cuka apel secara efektif mencegah induksi lipopolisakarida yang dapat meningkatkan kadar sitokin proinflamatori seperti IL-6 dan TNF- α sehingga mengurangi kecemasan dan depresi.

Penelitian ini memberikan makna bahwa cuka apel dapat digunakan sebagai antioksidan alami adjuvan yang dapat memperbaiki penurunan kadar antioksidan endogen akibat paparan asap rokok. Dosis pemberian cuka apel yang digunakan juga menunjukkan efektifitas yang lebih baik dengan efektifitas selenium dan mendekati kelompok normal. Penelitian pengaruh cuka apel terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) masih terdapat keterbatasan. Penelitian ini hanya menggunakan satu dosis cuka apel saja, sehingga perlu penelitian lanjutan dengan berbagai dosis untuk bisa mengembalikan kadar G-Px seperti kelompok normal. Pada penelitian ini belum dilakukan pemeriksaan kadar flavonoid dalam cuka apel, kadar nikotin & serotonin dalam plasma darah tikus, dan juga kadar antioksidan endogen lainnya seperti SOD, CAT, dan GSH. Peneliti tidak mengamati perubahan perilaku pada tikus seperti agitasi, kedipan mata, geliat, dan ptosis mata tikus tiap harinya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

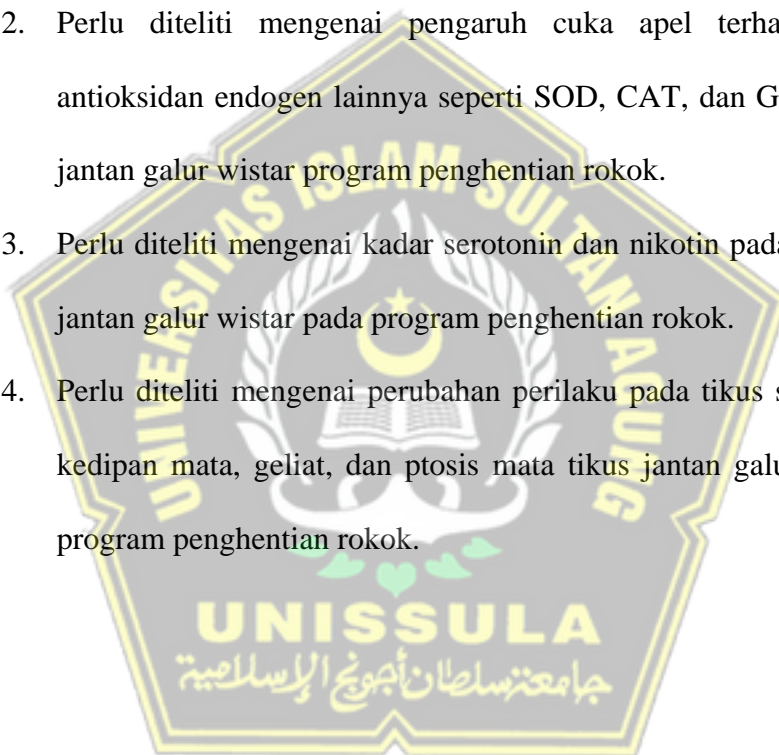
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

- 5.1.1 Cuka apel berpengaruh terhadap kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus putih jantan galur wistar pada program penghentian rokok.
- 5.1.2 Rerata kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar yang diberi pakan standar dan aquades adalah $56,24 \pm 0,97$ pg/ml.
- 5.1.3 Rerata kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok yang diberi pakan standar dan aquades adalah $27,69 \pm 0,61$ pg/ml.
- 5.1.4 Rerata kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok yang diberi cuka apel adalah $50,44 \pm 0,64$ pg/ml.
- 5.1.5 Rerata kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok yang diberi SSRI dan selenium adalah $49,38 \pm 0,49$ pg/ml.
- 5.1.6 Rerata kadar antioksidan glutathione peroksidase (G-Px) antar kelompok berbeda signifikan ($p < 0,05$).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran terkait dengan keterbatasan penelitian ini adalah :

- 5.2.1. Perlu penelitian lanjutan menggunakan cuka apel dengan berbagai dosis terhadap kadar glutathione peroksidase (G-Px) pada tikus jantan galur wistar program penghentian rokok.
- 5.2.2. Perlu diteliti mengenai pengaruh cuka apel terhadap berbagai antioksidan endogen lainnya seperti SOD, CAT, dan GSH pada tikus jantan galur wistar program penghentian rokok.
- 5.2.3. Perlu diteliti mengenai kadar serotonin dan nikotin pada plasma tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok.
- 5.2.4. Perlu diteliti mengenai perubahan perilaku pada tikus seperti agitasi, kedipan mata, geliat, dan ptosis mata tikus jantan galur wistar pada program penghentian rokok.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdali, Y. El, & Saghrouchni, H. (2023). *Exploring the Bioactive Compounds in Some Apple Vinegar Samples and Their Biological Activities*. 12, 3850. <https://doi.org/10.3390/plants>
- Alzoubi, K. H. et al. (2022). Time course of changes in inflammatory and oxidative biomarkers in lung tissue of mice induced by exposure to electronic cigarette aerosol. *Toxicology Reports*, 9, 1484–1490. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.07.001>
- Ayoub, N., Nor, E., & Mahmoud, F. (2015). Apple Cider Vinegar (A Prophetic Medicine Remedy) Protects against Nicotine Hepatotoxicity: A Histopathological and Biochemical Report. *American Journal of Cancer Prevention*, 3(6), 122–127. <https://doi.org/10.12691/ajcp-3-6-4>
- Benli, A. R. et al. (2017). A comparison of the efficacy of varenicline and bupropion and an evaluation of the effect of the medications in the context of the smoking cessation programme. *Tobacco Induced Diseases*, 15(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12971-017-0116-0>
- Caliri, A. W., Tommasi, S., & Besaratinia, A. (2021). Relationships among smoking, oxidative stress, inflammation, macromolecular damage, and cancer. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 787). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108365>
- Chellian, R., Behnood-Rod, A., & Bruijnzeel, A. W. (2023). Development of Dependence in Smokers and Rodents With Voluntary Nicotine Intake: Similarities and Differences. In *Nicotine and Tobacco Research* (Vol. 25, Issue 7, pp. 1229–1240). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntac280>
- Chellian, R., Behnood-Rod, A., & Bruijnzeel, D. M. et al. (2021). Rodent models for nicotine withdrawal. In *Journal of Psychopharmacology* (Vol. 35, Issue 10, pp. 1169–1187). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/02698811211005629>
- Denis, M. C. et al. (2013). Apple Peel Polyphenols and Their Beneficial Actions on Oxidative Stress and Inflammation. In *PLoS ONE* (Vol. 8, Issue 1). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053725>
- Department of Health. (2020). *Interventions for Smoking Cessation and Treatments for Nicotine Dependence*.
- Emma, S., Maulana, M., & Kuntoro. (2018). *Buku Ajar Pengendalian Tembakau* (F. Safrilia, Ed.; 7th ed.). K-Media.

- Flohé, L., Toppo, S., & Orian, L. (2022). The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 187, pp. 113–122). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.05.003>
- Garcia-Gomez, L. et al. (2019). Smoking cessation treatments: Current psychological and pharmacological options. In *Revista de Investigacion Clinica* (Vol. 71, Issue 1, pp. 7–16). Instituto Nacional de la Nutricion Salvador Zubiran. <https://doi.org/10.24875/RIC.18002629>
- Halima, B. H., & Sonia, G. et al. (2018). Apple Cider Vinegar Attenuates Oxidative Stress and Reduces the Risk of Obesity in High-Fat-Fed Male Wistar Rats. *Journal of Medicinal Food*, 21(1), 70–80. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0039>
- Hanafiah, K. A. (2016). *Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi* (3rd ed.). Rajawali Pers.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Jin, X. et al. (2023). Pathophysiology of obesity and its associated diseases. In *Acta Pharmaceutica Sinica B*. Chinese Academy of Medical Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.01.012>
- Johnston, C. S., & Jasbi, P. et al. (2021). Daily vinegar ingestion improves depression scores and alters the metabolome in healthy adults: A randomized controlled trial. *Nutrients*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/nu13114020>
- Kementerian Kesehatan. (2021). *GATS (Global Adult Tobacco Survey) Fact Sheet Indonesia 2021 - GATS Objectives*.
- Le Foll, B., & Piper, M. E. et al. (2022). Tobacco and nicotine use. In *Nature Reviews Disease Primers* (Vol. 8, Issue 1). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41572-022-00346-w>
- M S Sirait, A. C., & Tjandra, O. (2023). The Usage Pattern of Antidepressant Drugs for Patients with Mental Disorders at the TNI AL Dr. Mintohardjo Jakarta Hospital in 2020. *Oentarini Tjandra EJKI*, 11(1). <https://doi.org/10.23886/ejki.11.202.8>
- Martini, N. (2021). Apple cider vinegar. In *Journal of Primary Health Care* (Vol. 13, Issue 2, pp. 191–192). CSIRO. <https://doi.org/10.1071/HC19561>

- Mendoza-Wilson, A. M. et al. (2016). Chemical composition and antioxidant-prooxidant potential of a polyphenolic extract and a proanthocyanidin-rich fraction of apple skin. *Heliyon*, 2(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00073>
- Monroe, D. C., McDowell, C. P., Kenny, R. A., & Herring, M. P. (2021). Dynamic associations between anxiety, depression, and tobacco use in older adults: Results from The Irish Longitudinal Study on Ageing. *Journal of Psychiatric Research*, 139, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.05.017>
- Mons, U., & Muscat, J. E. (2016). Effect of smoking reduction and cessation on the plasma levels of the oxidative stress biomarker glutathione - Post-hoc analysis of data from a smoking cessation trial. *Free Radical Biology and Medicine*, 91, 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.018>
- Neki, N. S. (2015). Oxidative stress and aging. In *Bangladesh Journal of Medical Science* (Vol. 14, Issue 3, pp. 221–227). Ibn Sina Trust. <https://doi.org/10.3329/bjms.v14i3.23468>
- Nurkhasanah, Bachri, M., & Yuliani, S. (2023). *Antioksidan dan Stres Oksidatif* (G. Sabilla, Ed.; 1st ed.). UAD PRESS.
- Ohishi, T., Fukutomi, R., Shoji, Y., Goto, S., & Isemura, M. (2021). The beneficial effects of principal polyphenols from green tea, coffee, wine, and curry on obesity. *Molecules*, 26(2). <https://doi.org/10.3390/molecules26020453>
- Pajai, D. D., Paul, P., & Reche, A. (2023). Pharmacotherapy in Tobacco Cessation: A Narrative Review. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.35086>
- Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>
- Pizzorno, J. E., & Murray, M. T. (2020). *Textbook of Natural Medicine* (1st ed., Vol. 2). Elsevier.
- Post, M., & Lubiński, W. et al. (2018). Serum selenium levels are associated with age-related cataract. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 25(3), 443–448. <https://doi.org/10.26444/aaem/90886>
- Putri Agustin, M., Biologi, J., & Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang, F. (2021). *Pengaruh Paparan Rokok Elektrik terhadap kadar GPx dan Catalase pada darah Tikus*. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/LifeSci>

- Rahmawati, N., Sugiyanta, & Nurus, E. S. (2018). *Pengaruh Pemberian Cuka Apel "A" terhadap Kadar MDA Hepar*.
- Rohman, A., Yudiarso, A., & Tondok, M. (2021). Hubungan Antara Nicotine Dependence Syndrome dengan Insomnia pada Mahasiswa di Kota Surabaya. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 9(2).
- Song, J., & Zhang, J. H. et al. (2019). Analysis of microbial diversity in apple vinegar fermentation process through 16s rDNA sequencing. *Food Science and Nutrition*, 7(4), 1230–1238. <https://doi.org/10.1002/fsn3.944>
- Syifa Nabila, F., Sukohar, A., & Setiawan, G. (2017). Terapi Pengganti Nikotin Sebagai Upaya Menghentikan Kebiasaan Merokok Majority. *Majority*, 6.
- Tan, Y. L., & Dorotheo, U. (2018). The Tobacco Control Atlas: ASEAN Region, Fourth Edition. In *Southeast Asia Tobacco Control Alliance (SEATCA)*. www.seatca.org.
- Tripathi, S., & Mazumder, P. M. (2020). Apple cider vinegar (ACV) and their pharmacological approach towards alzheimer's disease (AD): A review. In *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* (Vol. 54, Issue 2, pp. S67–S74). Association of Pharmaceutical Teachers of India. <https://doi.org/10.5530/ijper.54.2s.62>
- Tripathi, S., & Mazumder, P. M. (2022). Neuroprotective Efficacy of Apple Cider Vinegar on Zinc-High Fat Diet-Induced Mono Amine Oxidase Alteration in Murine Model of AD. *Journal of the American Nutrition Association*, 41(7), 658–667. <https://doi.org/10.1080/07315724.2021.1948933>
- Ursini, F., & Maiorino, M. (2013). Glutathione Peroxidases. In *Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition* (pp. 399–404). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00383-2>
- Vinay, K. et al. (2013). *Robbins Basic Pathology*. 9th Ed. Elsevier.
- Vlahos, R., & Bozinovski, S. (2013). Glutathione peroxidase-1 as a novel therapeutic target for COPD. In *Redox Report* (Vol. 18, Issue 4, pp. 142–149). <https://doi.org/10.1179/1351000213Y.0000000053>
- Wahyuni, F., & Rachmani, F. (2020). *Interaksi Farmakokinetika Antara Fluoxetin Dengan Fenitoin Pada Pasien Depresi di Rumah Sakit Jiwa Pof. H.B. Saanin Padang*.
- Yuliyanti, A., Tjandra, A., & Setianingsih, H. (2019). Pengaruh Pemberian Cuka Apel (Malus SylvestrisMill) Varietas Manalagi Terhadap Kadar Trigliserida Darah Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Jantan Galur Wistar Yang Diberi Diet Tinggi Lemak Dan Diinduksi Aloksan. *AGRI-TEK: Jurnal Ilmu*

Pertanian, Kehutanan Dan Agroteknologi, Volume 20 Nomor 2.
<http://agritek.unmermadiun.ac.id/index.php/agritek>

Yuniastuti, A., & Susanti, R. (2013). *Analisis Sekuen Gen Glutation Peroksidase (Gp-X1) sebagai Deteksi Stres Oksidatif Akibat Infeksi Mycobacterium Tuberculosis*.

Zakeri, N. et al. (2021). Selenium supplementation and oxidative stress: A review. In *PharmaNutrition* (Vol. 17). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2021.100263>

Zhang, S., & Hu, C. (2021). Polyphenols in fermented apple juice: Beneficial effects on human health. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 76). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104294>

