

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf13nk138>

Efek Paparan Asap Rokok Terhadap Kadar *Total Antioxidant Capacity* (TAC)

Siti Thomas Zulaikhah

Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Unissula Semarang; sitithomas@unissula.ac.id
(koresponden)

Sampurna Sampurna

Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Unissula Semarang, email: sampurnasam63@gmail.com

ABSTRACT

Cigarette smoke resulting from smoking is a risk factor for lung cancer, respiratory infections, and cardiovascular disease. Particles contained in cigarette smoke have the potential to increase the content of free radicals in the body and reduce antioxidant levels. Total Antioxidant Capacity (TAC) levels reflect the sum of all antioxidants in the body and is a biomarker of antioxidant protection against free radicals. The purpose of this study was to determine the impact of exposure to cigarette smoke on TAC levels in Wistar strain rats exposed to cigarette smoke. The design used was a post test only control group. The independent variable in this study was exposure to cigarette smoke, while the dependent variable was the level of TAC. The study population was male wistar rats that were kept at the Inter-University Center (PAU), Gadjah Mada University, Yogyakarta. Twelve male wistar rats were used in this study, which were randomly divided into 2 groups, namely group K1 (given standard et libitum + aquadest diet); K2 (given standard feed et libitum + aquadest + exposure to cigarette smoke 3 sticks/day). The treatment was given for 14 days. On the 15th day, the mice's blood was taken to examine the levels of TAC in them, using the ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) method. Data were analyzed using the Mann Whitney-U test. The mean TAC level in K1 was 1.79 ± 0.5 mmol/L and in K2 it was 0.56 ± 0.06 mmol/L. The p-value was 0.002 (<0.05). It was concluded that exposure to cigarette smoke could reduce TAC levels in Wistar strain rats exposed to cigarette smoke.

Keywords: cigarette smoke; TAC levels; free radicals

ABSTRAK

Asap rokok yang ditimbulkan dari kegiatan merokok merupakan faktor risiko terjadinya kanker paru, infeksi saluran pernafasan, dan penyakit kardiovaskuler. Partikel yang terkandung di dalam asap rokok berpotensi meningkatkan kandungan radikal bebas di dalam tubuh dan menurunkan kadar antioksidan. Kadar *Total Antioxidant Capacity* (TAC) mencerminkan jumlah dari semua antioksidan dalam tubuh dan merupakan biomarker dari perlindungan antioksidan terhadap radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dampak paparan asap rokok terhadap kadar TAC pada tikus galur wistar yang dipapar asap rokok. Desain yang digunakan adalah *post test only control group*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah paparan asap rokok, sedangkan variabel terikat adalah kadar TAC. Populasi penelitian adalah tikus jantan galur wistar yang dipelihara di Pusat Antar Universitas (PAU), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Dua belas ekor tikus jantan galur wistar digunakan dalam penelitian ini, yang dibagi menjadi 2 kelompok secara random, yaitu kelompok K1 (diberi pakan standar et libitum + aquadest); K2 (diberi pakan standar et libitum + aquadest + paparan asap rokok 3 batang/hari). Perlakuan diberikan selama 14 hari. Pada hari ke-15 darah tikus diambil untuk diperiksa kadar TAC di dalamnya, menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Data dianalisis menggunakan uji Mann Whitney-U. Rerata kadar TAC pada K1 adalah $1,79 \pm 0,5$ mmol/L dan pada K2 adalah $0,56 \pm 0,06$ mmol/L. Nilai p adalah 0,002 ($<0,05$). Disimpulkan bahwa paparan asap rokok dapat menurunkan kadar TAC pada tikus galur wistar yang dipapar asap rokok.

Kata kunci: asap rokok; kadar TAC; radikal bebas

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Asap Rokok mengandung 1014 radikal bebas dalam fase tar dan 1015 radikal bebas dalam fase gas dan 4700 senyawa kimia yang kompleks ⁽¹⁾, beberapa diantaranya yaitu nikotin, tar, dan karbon monoksida. Senyawa-senyawa tersebut jika masuk ke dalam tubuh dapat memicu pembentukan dan peningkatan Reactive Oxygen Species (ROS) yang bersifat sebagai radikal bebas ⁽²⁾. Rokok merupakan sumber radikal bebas yang dapat meningkatkan radikal bebas dan menurunkan TAC dalam tubuh ⁽³⁾. Pengukuran TAC sangat penting untuk menunjukkan adanya kadar radikal bebas dalam tubuh. TAC merupakan jumlah keseluruhan senyawa antioksidan dalam serum dan plasma darah yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas, paparan asap rokok dapat

menurunkan kadar TAC pada wanita hamil⁽⁴⁾. Kadar TAC dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal adalah produksi atau pembentukan radikal bebas, dan faktor eksternal yaitu asupan zat gizi dan senyawa non-gizi sebagai antioksidan sekunder⁽⁴⁾. TAC banyak digunakan dalam berbagai penelitian untuk mengetahui kemampuan plasma secara total untuk menangkap atau menetralkan radikal bebas. Pengukuran status antioksidan total tidak memisahkan antioksidan enzimatis dan non enzimatis⁽⁵⁾. Asap rokok merupakan campuran kompleks dari senyawa kimia, yang mengandung banyak radikal bebas dan oksidan dan dihubungkan dengan kadar antioksidan yang rendah, peningkatan stres oksidatif dan kerusakan serta peningkatan risiko beberapa penyakit kronis seperti kanker paru, infeksi saluran pernafasan, dan penyakit kardiovaskuler. Faktor risiko utama dari merokok di seluruh dunia adalah kematian dini dan kecacatan. Menurut perkiraan WHO ada sekitar 1,1 miliar perokok di seluruh dunia dan ini mewakili sekitar sepertiga dari populasi global yang berusia di atas 15 tahun⁽⁶⁾. Diperkirakan bahwa kematian terkait merokok akan meningkat menjadi 10 juta setiap tahun pada tahun 2030, dengan 70% dari kematian ini terjadi di negara berkembang⁽⁷⁾. Indonesia menduduki peringkat ketiga dunia dengan jumlah perokok terbesar di dunia setelah Negara Cina dan India⁽⁸⁾. Angka kematian akibat rokok di Indonesia adalah yang tertinggi di kawasan Asia Tenggara yaitu mencapai 194 ribu dibandingkan Filipina 107 ribu, Thailand 75 ribu dan Myanmar 61 ribu⁽⁹⁾. Kematian akibat rokok diperkirakan 50% berada di negara berkembang, dengan kecenderungan hampir setengahnya masih dalam usia produktif yaitu 20-25 tahun dan berpotensi kehilangan usia hidup (*lost of life*)⁽⁸⁾.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa paparan asap rokok menurunkan kadar TAC pada saliva, TAC saliva pada perokok lebih tinggi dibanding dengan bukan perokok, rerata kadar TAC saliva pada perokok 0,529 mol/dL dan bukan perokok 0,741 mol/dL⁽¹⁰⁾, sedang peneliti lain menunjukkan Rerata kadar TAC saliva pada perokok 1,87±0,49 mol/dL dan bukan perokok 4,10±0,73 mol/dL⁽¹⁾. Rerata kadar TAC pada saliva menurut Shwetha, 2018 menunjukkan 573±60 µmol/dL untuk perokok dan 800 ±67 µmol/dL yang bukan perokok⁽¹¹⁾. Kadar TAC mencerminkan jumlah dari semua antioksidan dalam tubuh dan merupakan biomarker dari perlindungan antioksidan terhadap radikal bebas⁽¹²⁾. TAC memberikan informasi yang lebih baik tentang status antioksidan secara keseluruhan, dibandingkan dengan pengukuran terhadap masing-masing antioksidan pada individu⁽¹³⁾. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar penelitian eksperimen terhadap bahan alami yang dapat mencegah tingginya kadar CRP akibat paparan asap rokok.

Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek paparan asap rokok terhadap kadar TAC pada tikus galur wistar yang dipapar asap rokok

Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah: “paparan asap rokok dapat menurunkan kadar TAC pada tikus jantan galur wistar.”

METODE

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan menerapkan *posttest only control group design*. Variabel bebas adalah paparan asap rokok, sedangkan variabel terikat adalah kadar TAC. Populasi penelitian adalah tikus jantan galur wistar yang dipelihara di Pusat Antar Universitas (PAU), Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Sampel adalah 12 ekor tikus yang dibagi menjadi 2 kelompok secara random, sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Sebelum dilakukan randomisasi, ke-12 ekor tikus di aklimatisasi selama 7 hari supaya terjadi penyesuaian atau adaptasi, tikus diberi makan standart 20 gr *et libitum* per hari.

Pembagian Kelompok dan Pemberian Perlakuan

Pembagian kelompok sampel adalah sebagai berikut:

1. Kelompok 1 (K1: kontrol) adalah tikus jantan galur wistar diberi pakan standar *et libitum* + aquadest selama 14 hari
 2. Kelompok 2 (K2: perlakuan) adalah tikus jantan galur wistar diberi pakan standar *et libitum* + aquadest + paparan asap rokok 3 batang/hari selama 14 hari
- Pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah untuk diukur kadar TAC.

Pemberian Paparan Asap Rokok

Tikus dipindahkan ke dalam *smoking chamber* (kandang khusus) sesuai kelompoknya pada saat akan diberi paparan asap rokok. Kandang tersebut merupakan kotak pengasapan yang di dalamnya terdapat jeruji pembatas untuk memisahkan hewan coba dengan ujung rokok yang terbakar. Asap rokok dihembuskan berulang kali dengan

bantuan tabung injeksi hingga rokok habis terbakar. Jumlah rokok yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 batang/hari dan diberikan selama 14 hari.

Cara Pengambilan Darah

Peralatan yang digunakan adalah mikrohematokrit tubes steril, botol penampung darah dan kapas steril. Darah diambil dengan menusukkan mikrohematokrit tube pada vena opthalmicus di sudut bola mata tikus secara periorbita kemudian diputar perlahan-lahan sampai darah keluar. Darah yang keluar ditampung dalam ependrof sebanyak 2cc. Cabut mikro hematokrit tube apabila darah yang diperlukan telah mencukupi, bersihkan sisa darah disudut bola mata tikus dengan kapas steril.

Cara Pemeriksaan Kadar TAC

Pemeriksaan kadar TAC menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*),

Tempat Penelitian

Perlakuan hewan coba dan pemeriksaan kadar TAC dilakukan di PAU Gajah Mada Yogyakarta.

Analisis Data

Data diuji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai $p < 0,05$ sehingga dapat dikatakan distribusi data tidak normal, maka data dianalisis dengan uji *Mann Whitney*. Keputusan menerima atau menolak hipotesis berdasarkan $\alpha = 5\%$ ⁽¹⁴⁾.

HASIL

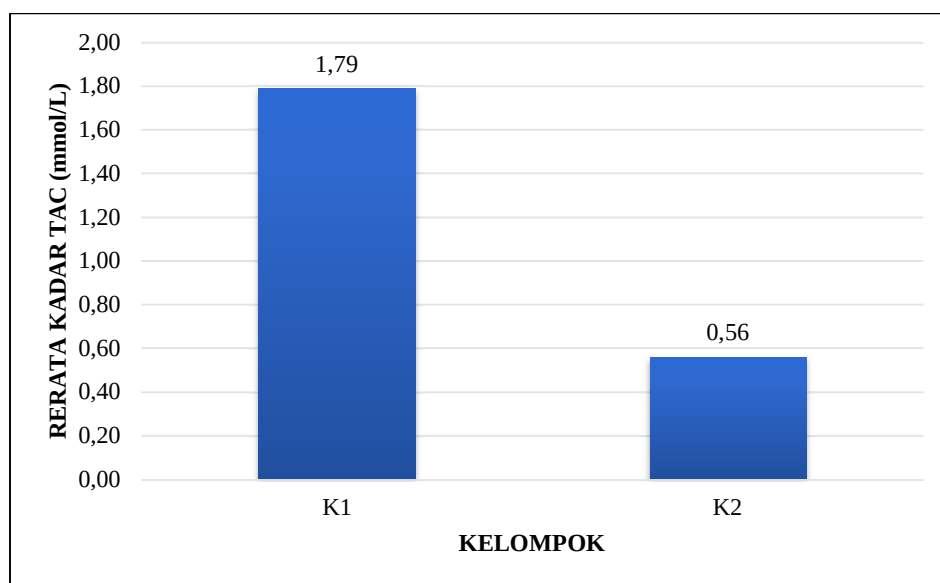
Hasil pemeriksaan kadar TAC dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 1, sedang hasil uji normalitas dan analisis data dengan uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Rerata kadar TAC pada 2 (dua) kelompok (K1 dan K2)

Kelompok	Rerata kadar TAC (mmol/L)	Standard deviation
K1	1,79	0,5
K2	0,56	0,06

Tabel 2. Hasil uji normalitas dan analisis data kadar TAC dengan *Mann Whitney*

Kelompok	Shapiro-Wilk			Hasil <i>Mann Whitney</i> (<i>p-value</i>)
	n	Sig.	Keterangan	
K1	6	0,382	Distribusi data normal	0,002
K2	6	0,000	Distribusi data tidak normal	



Gambar 1. Hasil analisis rerata kadar TAC antar kelompok dengan uji *Mann Whitney*

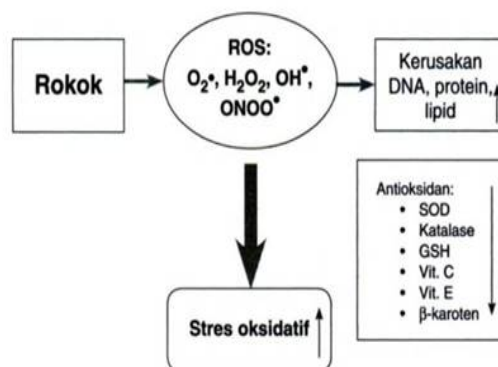
Berdasarkan tabel 1 dan gambar 1 diperoleh hasil bahwa rerata kadar TAC kelompok K1: $1,79 \pm 0,5$ mmol/L dan K2: $0,56 \pm 0,06$ mmol/L. Hipotesis dibuktikan berdasarkan data yang di analisis menggunakan statistik non parametrik yaitu uji *Mann Whitney* karena distribusi data tidak normal. Data tentang uji normalitas, dan uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada tabel 2. Hasil analisis dengan *Mann Whitney* diperoleh *p-value* 0,002 artinya hipotesis diterima, sehingga dapat diartikan bahwa pada α 5% paparan asap rokok terbukti menurunkan kadar TAC pada tikus jantan galur wistar

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini linier dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa paparan asap rokok menurunkan kadar TAC pada saliva, TAC saliva pada perokok lebih tinggi dibanding dengan bukan perokok, rerata kadar TAC saliva pada perokok $0,529$ mol/dL dan bukan perokok $0,741$ mol/dL⁽¹⁰⁾, sedang peneliti lain juga menunjukkan bahwa rerata kadar TAC saliva pada perokok $1,87 \pm 0,49$ mol/dL dan bukan perokok $4,10 \pm 0,73$ mol/dL⁽¹⁾. Rerata kadar TAC pada saliva menurut Shwetha, 2018 menunjukkan 573 ± 60 μ mol/dL untuk perokok dan 800 ± 67 μ mol/dL yang bukan perokok⁽¹²⁾. Penelitian ini terbatas tidak menggunakan variasi lama waktu dan jumlah batang rokok per hari, sementara lama waktu merokok berpengaruh terhadap kadar TAC⁽¹⁵⁾.

Spesies Oksigen Reaktif (ROS) yang dihasilkan dari asap rokok menyebabkan kerusakan oksidatif paru termasuk menyebabkan denaturasi protein, peroksidasi lipid, dan kerusakan DNA⁽¹⁶⁾. Peningkatan peroksidasi lipid dan stres oksidatif pada tubuh dapat dilihat dengan adanya peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar antioksidan endogen maupun eksogen. Asap rokok dapat dianggap sebagai penyebab utama penurunan kapasitas produksi sistem antioksidan karena peningkatan produksi ROS⁽¹⁷⁾. Asap rokok merupakan radikal bebas yang berasal dari sumber eksogen. Asap rokok mengandung lebih dari 4000 komponen kimia, antara lain: nikotin, tar, ammonia, karbon monoksida, nitrogen oksida, fenol, polifenol, asetaldehida, hidrogen sianida, akrolein, dan logam⁽¹⁸⁾. Nikotin yang terdapat pada rokok dapat menyebabkan peningkatan ROS dan penurunan TAC, serta menginduksi pembentukan senyawa aktif yang dapat mengganggu aliran darah dengan menginduksi terjadinya peradangan dalam pembuluh darah. Karbon monooksida dapat menyebabkan hipoksia dan peningkatan xanthine oxidase dan NADPH Oxidases. Logam seperti arsenik, kromium, nikel dan timbal dapat menyebabkan penurunan antioksidan enzim seperti Superoksida dismutase (SOD), katalase Glutation Peroksidase (GPx)⁽¹⁸⁾.

Dampak paparan asap rokok secara terus menerus dapat memicu peningkatan kadar ROS di dalam tubuh, kandungan yang terdapat di dalam asap rokok dapat bereaksi secara cepat sehingga dapat mengarah pada pembentukan ROS, seperti ion OH⁻, superoksida (O₂⁻), nitric oxide (NO), dan peroxy⁽¹⁹⁾. Seperti terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Dampak paparan asap rokok⁽¹⁹⁾

Sumber *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat berasal dari sumber endogen dan eksogen. Proses endogen atau berasal dari sel itu sendiri, yaitu melalui kerusakan membran plasma, mitokondria, peroksisom, dan retikulum endoplasma melalui reaksi enzimatis, sedangkan proses eksogen dapat berasal dari sinar ultraviolet, radiasi, paparan insektisida/herbisida, infeksi patogen, asap tembakau/rokok dan sebagainya⁽²⁰⁾. Hasil penelitian Zulaikhah dkk menyatakan bahwa kadar antioksidan endogen (GPx) pada tikus yang dipapar asap rokok lebih rendah ($33,96 \pm 3,13$ U/mL) dibandingkan dengan kelompok kontrol atau kelompok yang tidak dipapar asap rokok ($68,81 \pm 5,51$ U/mL)⁽²¹⁾. Kadar TAC mencerminkan jumlah dari semua antioksidan dalam tubuh dan merupakan biomarker dari perlindungan antioksidan terhadap radikal bebas⁽¹²⁾, serta memberikan informasi yang lebih baik tentang status antioksidan secara keseluruhan, dibandingkan dengan pengukuran terhadap masing-masing antioksidan pada individu⁽¹³⁾.

KESIMPULAN

Asap rokok mempunyai efek menurunkan kadar TAC pada tikus galur wistar yang dipapar asap rokok dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memberikan paparan asap rokok yang bervariasi terhadap durasi lama waktu dan jumlah batang rokok per hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. Falsafi P, Nasrabadi ET, Nasrabadi HT, Khiyavi RK, Eslami H. Comparison of total antioxidant capacity and Vitamin C in smokers and non-smokers. *Biomed Pharmacol J*. 2016;9(1):299–304.
2. Ma'arif MZ, Suradi S, Sugiarto S. Pengaruh pemberian buah naga merah, jambu biji merah, dan kombinasinya terhadap kapasitas antioksidan total dan kadar malondialdehid pada remaja perokok. *J Gizi Indones (The Indones J Nutr)*. 2020;9(1):53–60.
3. Indrastiti RK, Rahmayanti F, Soegyanto AI. Analysis of the total antioxidant capacity of saliva in smokers. *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr*. 2019;19(1):1–7.
4. Nadimin. Pengaruh Kebiasaan Konsumsi Sayur , Buah dan Perokok Pasif terhadap Kapasitas Antioksidan Total Ibu Hamil The Effect of Vegetables , Fruits Consumption and Passive Smokers on Antioxidants Capacity Total in Pregnant Women. *J MKMI*. 2018;14(2):181–9.
5. Widanti YA, Kurniawati dan L. Status Antioksidan Total Mahasiswa Perokok Dengan Perbedaan Konsumsi Ekstrak Ketan Hitam (*Oryza sativa var. Glutinosa*) Dan Jumlah Rokok Per Hari. *Goglo*. 2017;29(1).
6. Charlotta Pisinger. A systematic review of health effects of electronic cigarettes. Geneva: WHO; 2015.
7. Amritha. Effects of Smoking on Serum Total Antioxidant Capacity. India; 2021.
8. Kemenkes RI. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Kemenkes RI; 2018.
9. Tan YL, Dorotheo U. The Tobacco Control Atlas: ASEAN Region Fourth Edition. Bangkok; 2018.
10. Bakhtiari S, Azimi S, Mehdipour M, Amini S, Elmi Z, Namazi Z. Effect of Cigarette Smoke on Salivary Total Antioxidant Capacity. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2015;9(4):281–4.
11. Shwetha S, Chandra Sekhara Reddy V, Sudhir KM, Krishna Kumar RVS, Srinivasulu G. Influence of tobacco chewing and smoking on the salivary total antioxidant power-a clinical comparative study. *J Clin Diagnostic Res*. 2018;12(6):ZC09-ZC12.
12. Jayachandra S, Selvaraj R, Agnihotram G. Determination of serum total antioxidant capacity in male smokers and non-smokers. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 2017;7(6):591–3.
13. Shrivastava A, Saini S, Kakati B. Nerve conduction velocity and total antioxidant capacity among cigarette smokers. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2017;61(4):378–82.
14. Dahlan MS. Pintu Gerbang Memahami Epidemiologi, Biostatistik dan Metodologi Penelitian. Jakarta: Sagung Seto; 2018.
15. Norah A, Okaforchidimma, Dioka C, Meludu S. Evaluation of total antioxidant status , superoxide dismutase and malondialdehyde in apparently healthy active tobacco smokers in Nnewi Metropolis , South-. *J Sci Innov Researc*. 2017;6(3):105–12.
16. Duong C, Seow HJ, Bozinovski S, Crack PJ, Anderson GP, Vlahos R. Glutathione peroxidase-1 protects against cigarette smoke-induced lung inflammation in mice. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2010;299(3):425–33.
17. Badea M, Gaman L, Delia C, Ilea A, Leășu F, Henríquez-Hernández LA, et al. Trends of Lipophilic, Antioxidant and Hematological Parameters Associated with Conventional and Electronic Smoking Habits in Middle-Age Romanians. *J Clin Med*. 2019;8(5):665.
18. Taati B, Arazi H, Suzuki K. Oxidative stress and inflammation induced by waterpipe tobacco smoking despite possible protective effects of exercise training: A review of the literature. *Antioxidants*. 2020;9(9):1–13.
19. Mangimbulude JC, Karwur FF. Merokok dan Oksidasi DNA. 113–120.
20. Ayala A, Munoz MF, Arguelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Hindawi Publishing Corporation*. 2014;31.
21. Zulaikhah ST, Wahyu Wibowo J, Budi Wibowo MS. Pengaruh Air Kelapa Muda Terhadap Kadar Antioksidan Endogen Akibat paparan Asap Rokok Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*. 2021;12(3):290–293.