

Peningkatan Kadar Malondialdehid (MDA) Akibat Paparan Asap Rokok

Sampurna

Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia

Masyhudi

Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia

Alteriana Mydriati Sita Pritasari

Bagian Mata, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia

Siti Thomas Zulaikhah

Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia; siti.thomas@unissula.ac.id (koresponden)

Arrizki Azka Pratama

Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

ABSTRACT

Exogenous free radicals can come from exposure to cigarette smoke containing various hazardous chemical components. Free radicals cause oxidative stress and pathological conditions, such as lipid peroxidation, decreased antioxidant levels, protein oxidation and deoxyribonucleic acid. Lipid peroxidation is characterized by increased levels of malondialdehyde. The purpose of this study was to analyze the impact of cigarette smoke exposure on malondialdehyde levels in Wistar strain rats exposed to cigarette smoke. The design of this study was post-test only with control group. The sample of this study was 12 male Wistar strain rats kept in the laboratory. The sample criteria were rats weighing 150-200 grams and aged 2 months. The samples were divided into 2 groups randomly, namely group K1 (given standard feed et libitum + distilled water) and group K2 (given standard feed et libitum + distilled water + exposure to cigarette smoke 3 cigarettes / day). Treatment was given for 14 days. On the 15th day, blood samples were taken from mice to examine malondialdehyde levels using ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Data were analyzed using the Mann-Whitney test. The results of the analysis showed that the average malondialdehyde levels in K1 were 1.54 ± 0.55 mmol/L; while in K2 it was 9.77 ± 4.32 mmol/L. The p-value of the comparative analysis was 0.004; which means there was a difference in malondialdehyde levels between the two groups. Furthermore, it was concluded that exposure to cigarette smoke increased malondialdehyde levels in Wistar strain mice.

Keywords: cigarette smoke; malondialdehyde; free radicals

ABSTRAK

Radikal bebas eksogen dapat berasal dari paparan asap rokok yang mengandung berbagai macam komponen kimia berbahaya. Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif dan keadaan patologis, seperti peroksidasi lipid, penurunan kadar antioksidan, oksidasi protein dan *deoxyribonucleic acid*. Peroksidasi lipid ditandai dengan meningkatnya kadar *malondialdehyde*. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis dampak paparan asap rokok terhadap kadar *malondialdehyde* pada tikus galur wistar yang dipapar asap rokok. Desain penelitian ini adalah *post test only with control group*. Sampel penelitian ini adalah 12 ekor tikus jantan galur wistar yang dipelihara di laboratorium. Kriteria sampel adalah tikus dengan berat badan 150-200 gram dan berumur 2 bulan. Sampel dibagi menjadi 2 kelompok secara random, yaitu kelompok K1 (diberi pakan standar *et libitum* + aquadest) dan kelompok K2 (diberi pakan standar *et libitum* + aquadest + paparan asap rokok 3 batang/hari). Perlakuan diberikan selama 14 hari. Pada hari ke-15, dilakukan pengambilan sampel darah tikus untuk pemeriksaan kadar *malondialdehyde* menggunakan ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Data dianalisis menggunakan uji Mann-Whitney. Hasil analisis menunjukkan bahwa rerata kadar *malondialdehyde* pada K1 adalah $1,54 \pm 0,55$ mmol/L; sedangkan pada K2 adalah $9,77 \pm 4,32$ mmol/L. Nilai p dari analisis perbandingan adalah 0,004; yang berarti ada perbedaan kadar *malondialdehyde* di antara kedua kelompok. Selanjutnya disimpulkan bahwa paparan asap rokok meningkatkan kadar *malondialdehyde* pada tikus galur wistar.

Kata kunci: asap rokok; *malondialdehyde*; radikal bebas

PENDAHULUAN

Merokok telah menjadi kebiasaan hidup yang sulit dipisahkan dari kehidupan dan berpotensi mengancam kesehatan.⁽¹⁾ Radikal bebas eksogen dapat diperoleh salah satunya dari paparan asap rokok yang mengandung berbagai macam komponen kimia berbahaya. Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif dan keadaan patologi, seperti peroksidasi lipid, penurunan kadar antioksidan, oksidasi protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA). Stres oksidatif diketahui dari meningkatnya kadar *malondialdehyde* (MDA) dan menurunnya enzim-enzim antioksidan (*superoxide dismutase*, katalase, dan *glutathion peroksidase*).⁽²⁾ Kadar MDA yang tinggi menunjukkan jumlah radikal bebas yang tinggi pula di dalam tubuh dan menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel kemudian MDA dapat berikatan dengan berbagai molekul biologis seperti protein, asam nukleat, dan amino fosfolipid secara kovalen sehingga dapat menyebabkan terjadinya kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu.⁽³⁾ Peningkatan radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan tingginya kadar MDA sebagai petanda terjadinya peroksidasi lipid. Sebatang rokok dapat mengandung 107 molekul oksidan.⁽⁴⁾

Perilaku merokok masyarakat Indonesia usia ≥ 15 tahun hampir selalu meningkat setiap tahunnya, seperti pada tahun 2007, 2010, dan 2013 berturut-turut sebesar 34,2%, 34,3%, dan 36,3%. Pada tahun 2016 menurun menjadi 32,8%, dan meningkat kembali di tahun 2018 yaitu 33,8%. Berdasarkan jenis kelamin penduduk usia ≥ 15 tahun, laki-laki lebih mendominasi dibandingkan perempuan yaitu 62,9% dan 4,8%.⁽⁵⁾ Penelitian membuktikan bahwa risiko berkembangnya penyakit, seperti: penyakit kardiovaskular (terutama stroke), penyakit pernapsan, hingga kanker disebabkan oleh merokok.⁽⁶⁾ Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007,

kematian tertinggi disebabkan oleh *stroke* (15,4%). Penyakit lain seperti neoplasma menjadi penyebab kematian tertinggi kedua yaitu sebesar 5,7% diikuti oleh penyakit jantung koroner sebesar 5,1%.⁽⁶⁾

Secara fisiologis, tubuh memiliki keseimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas dengan enzim-enzim antioksidan. Radikal bebas dan antioksidan yang tidak seimbang membentuk radikal lipid selanjutnya terjadi perubahan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) menjadi lipid hidroperoksida yang mudah diurai menjadi MDA (*malondialdehyde*). PUFA yang mengalami perubahan akan menyebabkan penurunan kekuatan membran sel.⁽⁷⁾ MDA merupakan senyawa yang sangat reaktif dan merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, biasanya digunakan sebagai petanda terjadinya peroksidasi lipid.⁽⁶⁾ Terdapat perbedaan antara kadar MDA serum kelompok bukan perokok dan perokok sedang berat serta kadar MDA serum kelompok perokok ringan dan perokok sedang-berat.⁽⁹⁾ Berdasarkan latar belakang di atas maka diperlukan penelitian yang bertujuan untuk untuk menganalisis dampak paparan asap rokok terhadap kadar MDA pada tikus galur wistar yang dipaparkan asap rokok.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium PSPG (Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta). Studi ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only with control group*. Variabel bebas adalah paparan asap rokok; sedangkan variabel terikat adalah kadar MDA. Populasi penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar yang dipelihara di Laboratorium PSPG (Pusat Studi Pangan dan Gizi), Penelitian Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Kriteria sampel yang digunakan adalah tikus dengan berat badan 150-200 gram dan berumur 2 bulan. Ukuran sampel adalah 12 ekor tikus yang selanjutnya dibagi menjadi 2 kelompok secara random, sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

Sebelum dilakukan randomisasi, keduabelas ekor tikus tersebut diadaptasikan selama 7 hari, tikus diberi makan standar 20 gr *et libitum* per hari. Kelompok K1 yang selanjutnya disebut kelompok kontrol adalah tikus jantan galur wistar diberi pakan standar *et libitum* + aquadest selama 14 hari. Kelompok K2 yang selanjutnya disebut kelompok perlakuan adalah tikus jantan galur wistar diberi pakan standar *et libitum* + aquadest + paparan asap rokok 3 batang/hari selama 14 hari. Untuk pemaparan 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 dihisap 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.

Pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah untuk dilakukan pengukuran kadar MDA. Peralatan yang digunakan pada tahap ini adalah mikrohematokrit tubes steril, botol penampung darah dan kapas steril. Darah diambil dengan menusukkan mikrohematokrit tube pada vena *ophthalmicus* 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 di sudut bola mata tikus dengan kapas steril. Pemeriksaan kadar MDA dilakukan menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Tahap selanjutnya adalah melakukan uji normalitas data kadar MDA menggunakan uji Shapiro-Wilk dengan nilai $p < 0,05$, sehingga dapat analisis perbandingan kadar MDA pada kedua kelompok dilakukan dengan uji Mann-Whitney, dengan $\alpha 5\%$.⁽¹⁰⁾

HASIL

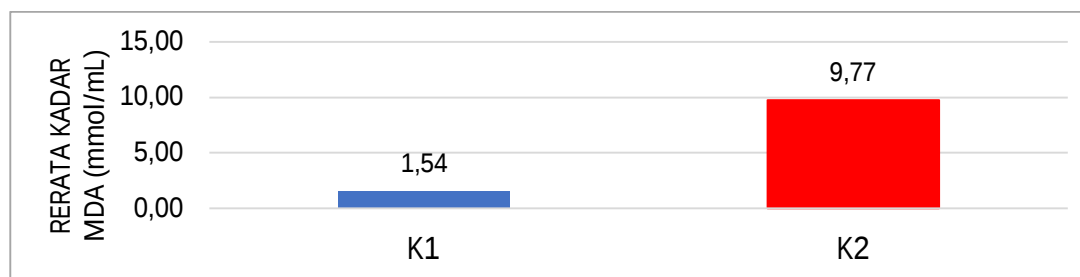
Hasil pemeriksaan kadar MDA dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1. Tampak bahwa rerata kadar MDA pada kelompok K1 adalah $1,54 \pm 0,55$ mmol/L dan pada kelompok K2 adalah $9,77 \pm 4,32$ mmol/L. Tabel 2 menunjukkan bahwa distribusi data tidak normal (nilai $p 0,001$). Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan nilai $p = 0,004$, sehingga ditafsirkan bahwa ada perbedaan kadar MDA pada tikus jantan galur wistar antara yang mendapat dan tidak mendapat paparan asap rokok. Selanjutnya bisa dikatakan bahwa paparan asap rokok terbukti meningkatkan kadar MDA.

Tabel 1. Rerata kadar MDA pada tikus jantan galur wistar yang mendapat dan tidak mendapat paparan asap rokok

Kelompok	Rerata kadar MDA (mmol/L)	Standar deviasi
K1	1,54	0,55
K2	9,77	4,32

Tabel 2. Hasil uji normalitas dan uji perbedaan kadar MDA antara tikus jantan galur wistar yang mendapat dan tidak mendapat paparan asap rokok

Kelompok	Saphiro-Wilk		Nilai p (Mann-Whitney)
	Nilai p	Keterangan	
K1	0,001	Distribusi data tidak normal	0,004
K2	0,002	Distribusi data tidak normal	



Gambar 1. Rerata kadar MDA kelompok 1 dan kelompok 2

PEMBAHASAN

Secara deskriptif, rerata kadar MDA pada kelompok tikus yang dipaparkan asap rokok lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak dipaparkan asap rokok; sedangkan secara analitik, terdapat perbedaan kadar MDA yang signifikan antara kelompok tersebut di atas. Hasil penelitian ini bertentangan dengan penelitian Kahnmoeei, *et al* (2014) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar MDA antara kelompok yang terpapar rokok dan yang tidak terpapar rokok.⁽¹⁰⁾ Paparan asap rokok akan memicu munculnya radikal bebas yang dapat meningkatkan terjadinya peroksidasi lipid, dan stres oksidatif yang ditandai dengan kadar MDA meningkat. Stres oksidatif yang meningkat dalam tubuh dapat diketahui dari meningkatnya kadar MDA akibat peroksidasi lipid dan menurunnya enzim antioksidan, seperti *superoxide dismutase*, katalase, *glutathion peroksidase*.⁽²⁾ Kerusakan oksidatif yang semakin berat akan mengganggu keseimbangan redoks sehingga menyebabkan penyakit atau kematian dan gangguan homeostasis biologis.^(11,12)

Peningkatan kadar MDA dapat memicu rendahnya antioksidan enzim seperti superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GPx) sehingga dapat menyebabkan penipisan glutathion dan peningkatan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida ini apabila bereaksi dengan logam transisi (*transitional metals*) seperti Fe^{++} dan Cu^+ dalam reaksi Fenton akan menghasilkan radikal hidroksil ($\bullet OH$) yang paling berbahaya karena reaktivitasnya sangat tinggi.⁽⁶⁾ Radikal hidroksil akan menarik atom H dari rantai samping PUFA dan membentuk radikal lipid. Radikal lipid akan bereaksi dengan oksigen dan membentuk lipid peroksil. Lipid peroksil bereaksi dengan lipid lain membentuk peroksidasi lipid. Lipid peroksil ini akan membentuk lipid peroksidasi jika bereaksi dengan radikal lipid. Asap rokok dapat dianggap sebagai penyebab utama penurunan kapasitas produksi sistem antioksidan karena peningkatan produksi ROS.⁽¹³⁻¹⁸⁾

Asap rokok mengandung 1014 radikal bebas dalam fase tar dan 1015 radikal bebas dalam fase gas dan 4700 senyawa kimia yang kompleks, beberapa diantaranya yaitu nikotin, tar, dan karbon monoksida. Senyawa-senyawa tersebut jika masuk ke dalam tubuh dapat memicu pembentukan dan peningkatan ROS yang bersifat sebagai radikal bebas. Asap rokok juga menjadi faktor utama yang paling berpengaruh terhadap peningkatan radikal bebas dalam tubuh.⁽¹⁹⁾ Asap rokok dapat merusak lapisan lemak.⁽²⁰⁾ Membran sel kaya sumber PUFA, yang mudah rusak oleh bahan-bahan pengoksidasi. Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh ini (asam-asam linoleat, linolenat dan arakidonat) sangat rawan terhadap serangan-serangan radikal, terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid. Proses keseluruhan terdiri dari 3 tahap, yaitu (1) inisiasi, (2) propagasi dan (3) terminasi. Peroksidasi lipid dicetuskan oleh sebuah senyawa radikal bebas, misalnya radikal hidroksil ($OH^\bullet$) yang mengekstraksi sebuah hidrogen dari lemak *polyunsaturated* (LH), sehingga terbentuk suatu radikal lemak ($L^\bullet$). Reaksi berantai radikal bebas diperluas oleh penambahan O_2 yang membentuk radikal peroksilipid ($LOO^\bullet$) dan peroksidasi lipid ($LOOH$), dapat pula terjadi ikatan silang (*cross-linking*) antara dua rantai asam lemak atau antara asam lemak dan rantai peptida (protein).⁽²¹⁾

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa asap rokok mempunyai efek meningkatkan kadar MDA pada tikus yang dipaparkan asap rokok dibandingkan dengan yang tidak terpapar asap rokok.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, LPPM Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penulisan artikel ilmiah ini

DAFTAR PUSTAKA

1. Jha P. The hazards of smoking and the benefits of cessation: a critical summation of the epidemiological evidence in high-income countries. *Elife*. 2020 Mar 24;9:e49979. doi: 10.7554/eLife.49979.
2. Mulyanti. Pengaruh pemberian air kelapa muda (*Cocos nucifera L*) terhadap indeks parasitemia, kadar malondialdehyde dan kadar hemoglobin pada malaria. Report. Semarang: Universitas Diponegoro; 2016.
3. Zulaikhah ST, Aini HFN, Rini AS, Abiyyu BH, Dewi EAT, Pratama AA. Tender coconut water (*Cocos nucifera L.*) can increase antioxidant enzymes and decrease MDA levels: Experimental study on cigarette smoke-exposed rats. *Pharmacogn J*. 2022;14(5):469-476.
4. Zulaikhah ST, Wibowo JW, Fitri H, Aini N, Pratama A. Tender coconut water can inhibit inflammation caused by cigarette smoke. *J Hunan Univ Sci*. 2021;48(12).
5. Kemenkes RI. Hasil utama riset kesehatan dasar. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018.
6. WHO. Global adult tobacco survey (GATS): Indonesian report. Geneva: World Health Organization; 2011.
7. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int*. 2014;2014:761264. doi: 10.1155/2014/761264.
8. Zulaikhah ST. Potensi antioksidan pada air kelapa. Semarang: Sultan Agung Pres; 2020.
9. Khriana MB, Hendrianingtyas M. Perbedaan kadar malondialdehid pada subyek bukan perokok, perokok ringan dan sedang-berat. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*. 2016;5(4):1235-1242.
10. Kahnmoeei JR, Maleki F, Nasirzadeh MR. The effects of cigarette smoking on plasma MDA and TAC in university students. *Indian J Fundam Appl Life Sci*. 2014;4(3):329-333.
11. Zuo J, Zhang Z, Luo M, Zhou L, Nice EC, Zhang W, Wang C, Huang C. Redox signaling at the crossroads of human health and disease. *MedComm* (2020). 2022 Mar 31;3(2):e127. doi: 10.1002/mco2.127.
12. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. 2017;482(3):419-425. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.

13. Zulaikhah ST. Efek paparan asap rokok terhadap kadar total antioxidant capacity (TAC). *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*. 2022;13(2):209-213.
14. Zulaikhah ST, Wibowo JW, Wibowo MSB. 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):290-2933.
15. Cha SR, Jang J, Park SM, Ryu SM, Cho SJ, Yang SR. Cigarette smoke-induced respiratory response: Insights into cellular processes and biomarkers. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Jun 3;12(6):1210. doi: 10.3390/antiox12061210.
16. Kotlyarov S. The role of smoking in the mechanisms of development of chronic obstructive pulmonary disease and atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2023 May 13;24(10):8725. doi: 10.3390/ijms24108725.
17. Liu Z, Ren Z, Zhang J, Chuang CC, Kandaswamy E, Zhou T, Zuo L. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Front Physiol*. 2018 May 17;9:477. doi: 10.3389/fphys.2018.00477.
18. Seo YS, Park JM, Kim JH, Lee MY. Cigarette smoke-induced reactive oxygen species formation: A concise review. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Sep 7;12(9):1732. doi: 10.3390/antiox12091732.
19. Sampurna, Zulaikhah ST. Asap rokok memberikan dampak terhadap kadar C-reactive protein (CRP) . *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*. 2022;13(1):183–7.
20. Pritasari AMS, Faida SN, Zulaikhah ST. Smoking as risk factors to dry eye syndrome. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2019;15(1):1-5.
21. Zulaikhah ST, Anies, ASS. Effects of tender coconut water on antioxidant enzymatic superoxida dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and lipid peroxidation in mercury exposure workers. *Int J Sci Res*. 2015;4(12):517-524.