

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asap Rokok

Salah satu bentuk olahan dari tembakau adalah rokok. Rokok merupakan gulungan dari kertas yang berisi daun-daun tembakau yang telah diiris-iris dan dikeringkan (*rolls of tobacco*). Rokok digunakan dengan cara salah satu ujungnya dibakar dan ujung lainnya dihisap. Kandungan kimia dalam rokok adalah sebagai berikut :

Tabel 2.1 Kandungan kimia dalam rokok

Golongan	Kandungan (%)
Selulose	7 – 16
Gula	0 – 22
Trigliserida	1
Protein	3,5 – 20
Nikotin	0,6 – 5,5
Pati	2 – 7
Abu (Ca, K)	9 – 25
Bahan organik	7 – 25
Lilin	2,5 – 8
Pektinat, polifenol, flavon, karotenoid, minyak atsiri, parafin, sterin, dll	7 - 12

(Sumber : Gondodiputro, 2007)

Asap rokok dari hasil pembakaran mengandung komponen gas dan partikel. Komponen gas yang terdiri dari karbon monoksida, karbondioksida, dan senyawa hidrokarbon sangat berpotensi untuk menimbulkan radikal bebas. Sedangkan komponen partikel diantaranya terdiri dari tar, nikotin, dan gas (Karim, 2011).

Telah banyak terbukti bahwa dengan mengkonsumsi rokok berdampak pada gangguan organ tubuh seperti gangguan pernapasan, gangguan system kardiovaskuler, gangguan saraf, gangguan pada saluran pencernaan dan merusak sistem reproduksi. Penyakit akibat rokok tidak hanya mengancam orang yang merokok saja, tetapi juga seorang *passive smoking* atau orang yang terpapar asap (Gondodiputro, 2007). Efek radikal bebas dari bahan kimia rokok terhadap sistem reproduksi memperlihatkan terjadinya gangguan spermatogenesis dan fertilisasi sperma, motilitas dan abnormalitas morfologi spermatozoa yang tinggi tersebut karena terhambatnya sekresi hormon testosteron dari sel leydig (Karim, 2011).

2.2 Radikal Bebas

Sekelompok atom maupun molekul yang memiliki satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan sehingga tidak stabil disebut dengan radikal bebas. Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya karena harus berpasangan dengan elektron untuk mencapai kestabilan. Apabila peristiwa ini tidak dihentikan maka dapat menimbulkan penyakit dalam tubuh (Arief, 2006).

Sumber radikal bebas ada dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen adalah radikal yang dihasilkan dari dalam tubuh misalnya radikal dari mitokondria, xantin oksidase, NADPH oksidase, mikrosom, membran inti sel dan peroksisom. Radikal bebas eksogen adalah radikal yang dihasilkan dari lingkungan luar seperti, asap rokok, radiasi UV, bahan kimia. Jenis-jenis radikal bebas yang merusak sel terdiri dari :

- a. *Reactive Oxygen Species* (ROS), yaitu senyawa reaktif turunan oksigen misalnya radikal superoksida (O_2^\bullet), radikal hidroksil (OH^\bullet), radikal alkoksil

(RO[•]), radikal peroksil (ROO[•]) serta senyawa bukan radikal yang berfungsi sebagai pengoksidasi atau senyawa yang mudah mengalami perubahan menjadi radikal bebas seperti hydrogen peroksida (HP), dan ozon (O₃).

b. *Reactive Nitrogen Species* (RNS), misalnya nitrogen dioksida (NO₂[•]), dan peroksinitrit (ONOO[•]) dan bukan radikal seperti HNO₂ dan N₂O₄ (Yusuf dkk., 2010).

Radikal bebas diproduksi dalam sel melalui reaksi pemindahan elektron. Produksi radikal bebas dalam sel dapat terjadi secara rutin dan sebagai reaksi terhadap rangsangan. Secara rutin adalah superoksida yang dihasilkan melalui aktivasi fagosit dan reaksi katalisa seperti ribonukleotida reduktase. Sedangkan pembentukan melalui rangsangan adalah kebocoran superoksida, hydrogen peroksida dan kelompok oksigen reaktif (ROS) lainnya pada saat bertemunya bakteri dengan fagosit teraktivasi (Arief, 2006).

Radikal bebas dapat menimbulkan perubahan kimia dan kerusakan terhadap protein, lemak, karbohidrat, dan nukleotida. Ketika radikal bebas terbentuk dekat dengan DNA, maka perubahan struktur DNA akan terjadi dan memicu mutasi atau sitotoksitas. Radikal bebas yang bereaksi dengan nukleotida menyebabkan perubahan pada komponen biologi sel. Apabila radikal bebas merusak grup *thiol* maka akan terjadi perubahan aktivitas enzim. Sel dirusak oleh radikal bebas melalui perusakan membran sel. Kerusakan pada membran sel ini dapat terjadi dengan cara:

- a) Pengikatan radikal bebas dengan enzim dan/atau reseptor yang berada di membran sel dapat merubah aktivitas komponen-komponen yang terdapat pada membran sel dan mengakibatkan perubahan fungsi membran
- b) Pengikatan radikal bebas dengan komponen membran sel dapat merubah struktur dan mengubah karakter membran menjadi seperti antigen;
- c) Radikal bebas mengganggu sistem transport membran sel, mengoksidasi kelompok *thiol*, atau dengan merubah asam lemak *polyunsaturated*;
- d) radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak *polyunsaturated* dinding sel. Hasil peroksidasi lipid yang terbentuk dapat merusak organisasi membran sel, mempengaruhi fluiditas membran, *cross-linking* membran, serta struktur dan fungsi (Sharma *et al.*, 2003).

2.3 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan

Salah satu hewan yang sering digunakan sebagai hewan percobaan adalah tikus putih (**Gambar 2.1**). Menurut Suckow *et al.*, (2006) klasifikasi taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah :

Kingdom	: Animalia
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

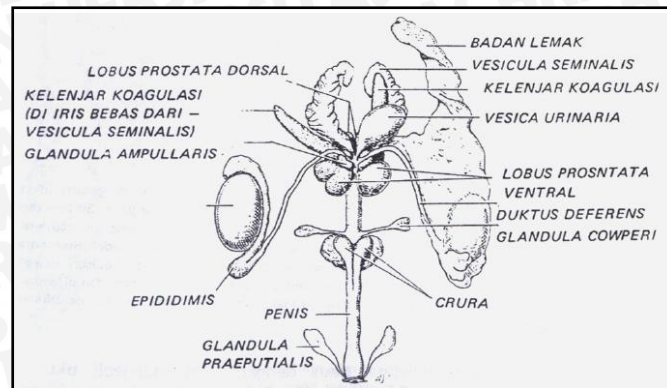


Gambar 2.1 *Rattus norvegicus* (Suckow *et al.*, 2006)

Tikus putih memiliki ekor bersisik dengan ukuran lebih pendek dibandingkan panjang badannya dan tubuhnya berukuran medium. Rambutnya sedikit kasar dan di bagian dorsal berwarna abu-abu serta di bagian ventral berwarna putih kekuningan (Suckow *et al.*, 2006). Jenis kelamin ditentukan dengan membandingkan celah anogenital melalui pengukuran jarak antara alat genital dengan anus dan ukuran tonjolan genital. Tikus jantan dicirikan dengan ukuran celah anogenital yang lebih panjang dan tonjolan genital yang lebih besar (Fox, 2002).

2.3.1 Anatomi Reproduksi Tikus Putih Jantan

Sistem reproduksi jantan merupakan organ-organ individual yang saling bekerja sama untuk memproduksi spermatozoa dan menyampaikannya ke traktus reproduksi betina. Organ reproduksi tikus jantan terdiri atas penis, skrotum, testis, epididimis, duktus deferent, dan kelenjar aksesoris seperti ampula, vesica seminalis, prostat, dan bulbouretralis (**Gambar 2.2**) (Hernawati, 2007).



Gambar 2.2 Organ genitalia tikus jantan dewasa (Hernawati, 2007).

2.3.2 Testis

Organ utama dari sistem reproduksi jantan adalah testis. Berada dalam kantung skrotum. Testis bertanggung jawab atas steroidogenesis dan spermatogenesis dalam pertumbuhan sel-sel germinal haploid. Fungsi tersebut terjadi pada sel-sel leydig dan tempat pembentukan sperma tubuli seminiferi. Pada bagian luar berbentuk convex dan licin. Testis dilindungi oleh *tunica vaginalis propina* yang di dalamnya terdapat *ductus epididymis* dan *ductus deferens*. Di dalam tubuli mengandung sel leydig berfungsi menghasilkan hormone testosteron. Tubuli seminiferi contorti menuju ke tubulus seminiferi rectus yang akan membentuk rete testis dan akan menyalurkan spermatozoa ke *ductus epididymis* (Fox, 2002).

Testis juga berfungsi menghasilkan hormon testosteron yang juga dipengaruhi oleh hormon lain, yaitu hormon *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH) disekresikan dari hipotalamus untuk menstimulasi pelepasan *Lutenising Hormone* (LH) dan *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) dari pituitari anterior yang mengatur aktivitas testis. LH merangsang sel-sel leydig untuk memproduksi testosteron dan FSH akan menstimulasi sel sertoli untuk proses pembentukan sel

germina. FSH dan testosteron merangsang sel-sel spermatogenik untuk melakukan meiosis dan berdiferensiasi menjadi sperma. Kurangnya kadar testosteron dapat menyebabkan berbagai macam gangguan pada reproduksi jantan (Hernawati, 2007).

2.3.3 Spermatogenesis dan Sperma Tikus Putih Jantan

Spermatogenesis merupakan suatu proses pembelahan sel germinal secara berkelanjutan untuk menghasilkan spermatozoa. Dalam proses spermatogenesis terdapat dua tahapan, yaitu:

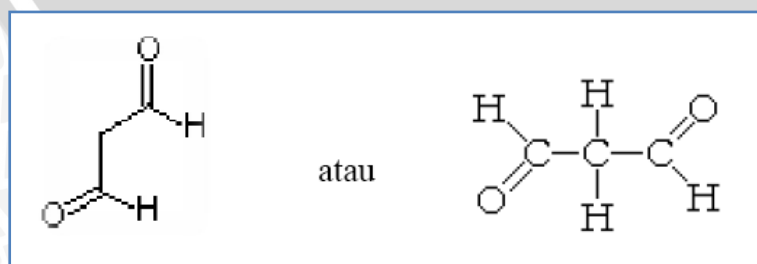
- 1) Spermatositogenesis (spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid awal, spermatid akhir). Pada hewan jantan proses terjadi sesaat sebelum pubertas, sel benih primordial berkembang menjadi spermatogonia yang selanjutnya akan berdiferensiasi menjadi spermatosit primer. Setelah DNA digandakan, spermatosit primer masuk ke tahap profase pembelahan meiosis pertama. Spermatosit primer berkembang menjadi dua spermatosit sekunder, dan mulai memasuki tahap pembelahan meiosis kedua dan akan dihasilkan empat spermatid yang bersifat haploid.
- 2) Spermogenesis (perubahan struktural spermatid menjadi spermatozoa). Pada tahapan ini terjadi perubahan struktural spermatid menjadi spermatozoa. Perubahan utama adalah kondensasi kromatin inti, pembentukan ekor spermatozoa dan perkembangan tudung akrosom. Setelah sempurna, spermatozoa memasuki rongga tubuli seminiferi dan masuk ke cauda epididimis. Pada tikus jantan, spermatozoa mulai berada di cauda epididimis pada usia 45-46 hari dan puncak produksinya pada usia 75 hari (Fox, 2002).

Pada bagian kepala sel spermatozoa terdapat nukleus haploid yang dilapisi oleh akrosom yang mengandung enzim untuk membantu menembus ovum. Bagian tengah sel sperma terdapat mitokondria dalam jumlah besar yang menghasilkan *Adenosin Tri Posphat* (ATP) yang berfungsi sebagai energi pergerakan falagel (Fox, 2002).

Kondisi spermatozoa dapat diamati berdasarkan kuantitas dan kualitasnya yang digunakan sebagai indikator fertilitas spermatozoa. Spermatozoa dikatakan memiliki kualitas yang baik apabila spermatozoa tersebut dalam keadaan normal sehingga dapat membuahi sel ovum. Beberapa pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk mengetahui kuantitas dan kualitas spermatozoa adalah pemeriksaan jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa (Hernawati, 2007).

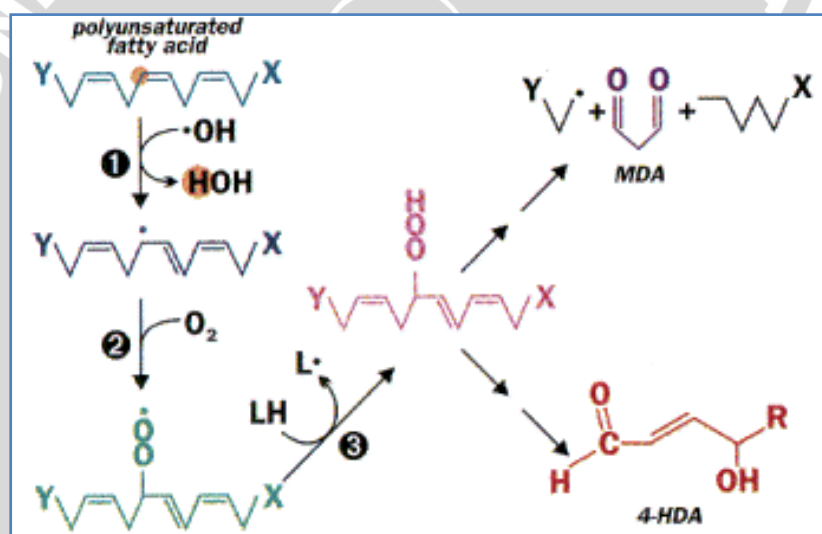
2.4 Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa kristal higroskopis berwarna putih yang terbentuk dari hidrolisis asam *1,1,3,3-tetraethoxypropane*. Salah satu biomarker yang sering digunakan untuk mengetahui level peroksidasi lipid total adalah kadar dari *malondialdehyde* plasma (**Gambar 2.3**). Pengukuran MDA memberikan perkiraan aktivitas radikal bebas serta sebagai penanda terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh (Karim, 2011).



Gambar 2.3 Struktur Kimia *Malondialdehyde* (Karim, 2011)

Malondialdehyde terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel yang merupakan reaksi radikal bebas seperti OH^\cdot dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai dan akibat akhir dari reaksi rantai tersebut adalah terbentuknya hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan molekul-molekul biologi termasuk protein dan lipid serta dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehyd utama (**Gambar 2.4**) (Hayati dkk., 2006).



Gambar 2.4 Mekanisme peroksidasi PUFA (Hayati dkk., 2006)

Peroksidasi lipid yang terjadi pada testis dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa, perubahan morfologi spermatozoa, dan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) dalam testis. Kadar MDA yang tinggi dalam plasma menyebabkan sel mengalami stres oksidatif. Kadar MDA dapat diukur dengan tes standar *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS test) (Hayati dkk., 2006).

2.5 Antioksidan

Menurut Haris (Astuti dkk., 2008), antioksidan adalah substansi yang dapat menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas melalui penghambatan oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif sehingga radikal bebas menjadi relatif stabil. Tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Pada keadaan terbentuknya radikal bebas dalam jumlah berlebihan, menyebabkan penurunan aktivitas sumber antioksidan endogen. Sehingga, ketika terjadi peningkatan radikal bebas dalam tubuh, dibutuhkan antioksidan eksogen (yang berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi).

Sistem pertahanan tubuh yang dapat digunakan untuk melawan radikal bebas sangat dipengaruhi oleh tersedianya zat-zat gizi dalam tubuh yang berasal dari makanan. Ada dua kelompok sumber antioksidan, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami). Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid (Astuti dkk., 2008).

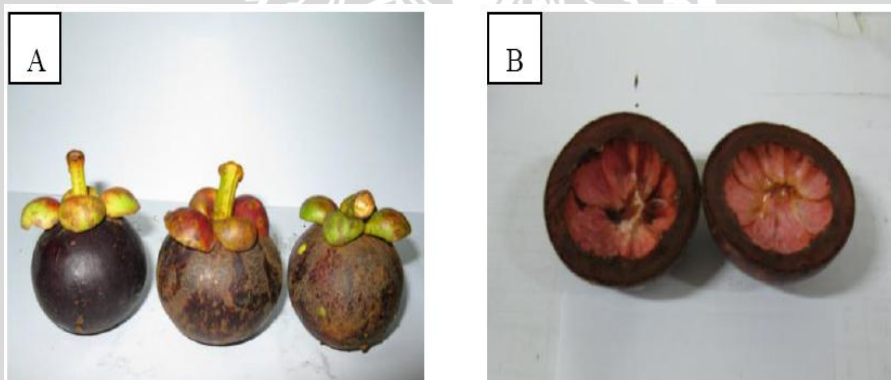
2.6 Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*)

Taksonomi tanaman manggis adalah sebagai berikut (Kastaman, 2007) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledonaceae
Ordo	: Guttiferales

Family : Guttiferae
Genus : *Garcinia*
Spesies : *Garcinia mangostana* L.

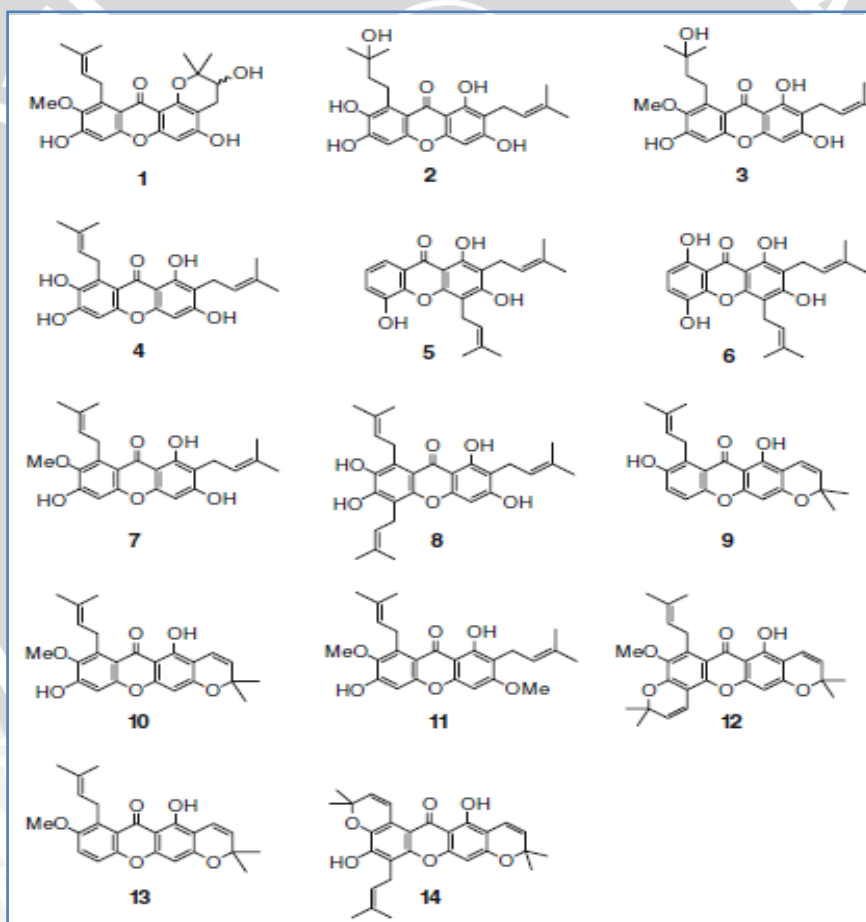
Buah manggis berbentuk bulat dan berjuring, sewaktu masih muda permukaan kulit buah berwarna hijau dan akan berubah setelah matang menjadi ungu kemerahan atau merah muda (**Gambar 2.5 A**). Kulit buah manggis ukurannya tebal dan mengandung getah berwarna kuning dan rasanya pahit (**Gambar 2.5 B**). Secara tradisional kulit buah dapat digunakan untuk mengobati sariawan, disentri, nyeri urat, sembelit dan kulit batang digunakan untuk mengatasi nyeri perut dan akar untuk mengatasi haid yang tidak teratur (Hadriyono, 2011).



Gambar 2.5 (A) Buah Manggis, (B) Kulit Buah Manggis (Hadriyono, 2011)

Kulit buah manggis bermanfaat bagi kesehatan karena mengandung antosianin, tanin, epikatekin, dan *xanthone*. Senyawa yang bertindak sebagai antioksidan adalah *xanthone* karena memiliki gugus hidroksi (OH) yang efektif mengikat radikal bebas di dalam tubuh. Senyawa ini juga memiliki struktur cincin 6 karbon dengan kerangka karbon rangkap. Struktur ini membuat *xanthone* sangat stabil dan serbaguna. Kandungan antioksidan kulit manggis 66,7 kali lebih banyak dari wortel dan 8,3 kali dari jeruk. Senyawa *xanthone* meliputi *alpha-mangostin*;

beta-mangostin; gamma-mangostin; 11-hydroxy-1-isomangostein; gartanin; 8-deoxygartanin; garcinone C, D dan E; demethylcalabaxanthone; 1,6-dihydroxy-7-methoxy-8-(3-methylbut-2-enyl)-6',6'dimethylpyrano (2',3':3,2) xanthone; b-mangostin; mangostinon A; calabaxanthone; tovophyllin B. Semua *xanthone* memiliki struktur kerangka yang sama, kekhasannya adalah pada rantai samping yang ditandai karbon 1 hingga 8 (**Gambar 2.6**). Selain sebagai antioksidan, *xanthone* juga bermanfaat sebagai antiploriferatif, antiinflamasi dan antimikrobia. (Fanany, 2013 dan Chaivisuthangkura *et al.*, 2009).



Gambar 2.6 Struktur Xanthone : (1) = 11-hydroxy-1-isomangostin, (2) = garcinone C, (3) = garcinone D (4) γ -mangostin, (5) 8-deoxygartanin, (6) gartanin, (7) α -mangostin, (8) garcinone E, (9) demethylcalabaxanthone, (10) 1,6-dihydroxy-7-methoxy-8-(3-methylbut-2-enyl)-6',6'dimethylpyrano(2',3':3,2)xanthone, (11) b-mangostin, (12) mangostenone A, (13) calabaxanthone, (14) tovophyllin B (Chaivisuthangkura *et al.*, 2009)

Jujun *et al.* (2006) telah melakukan uji toksisitas akut dan subkronis terhadap ekstrak etanol kulit buah manggis yang mengandung senyawa-senyawa bioaktif. Pada percobaan toksistas akut, ekstrak (10-25 %) tersebut tidak menunjukkan efek toksis (kematian dan perubahan fisik ataupun aktivitas) pada tikus. Secara histopatologi, juga tidak ditemukan perubahan yang berarti pada organ-organ vital tikus (hati, jantung, paru-paru, adrenal, ovarium, ginjal, testis). Pada percobaan toksisitas sub-kronis, pemakaian ekstrak etanol kulit buah manggis (dosis 50-1000 mg/kgBB) selama 28 hari juga tidak menunjukkan efek toksik yang berarti, yang meliputi pengamatan gejala efek toksis, perubahan pertumbuhan, bobot organ-organ vital, analisa hematologi, kimia darah maupun histopatologinya.

