

## BAB 6

## PEMBAHASAN

### 6.1 Pengaruh Paparan Asap Kendaraan Bermotor Terhadap Jumlah Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Paru Tikus Galur Wistar

Dari hasil analisis statistik didapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0.05$ ) antara kelompok normal (-) dengan kelompok yang terpapar asap kendaraan bermotor. Meskipun kandungan asap dalam penelitian ini belum diverifikasi. Tetapi hasil pembakaran bensin dari mesin tersebut mengandung berbagai macam zat-zat polutan diantaranya yaitu dapat berupa karbon monoksida CO, NO, SO<sub>2</sub>, ozone, Pb, dan PM yang diketahui memiliki efek berbahaya pada kesehatan dan berhubungan dengan penyakit jantung dan stroke (Brook *et al.*, 2004). Paparan akut maupun kronis dari polusi udara ini berpengaruh pada sistem respirasi yang dikaitkan dengan perubahan struktur dan fungsi saluran pernapasan termasuk paru-paru (WHO, 2004).

Pada intinya bahan-bahan polutan tersebut bersifat oksidan sehingga bila sering terinhalasi dapat terjadi kondisi stres oksidatif di dalam tubuh. Hal ini berarti bahwa antioksidan alami tubuh tidak mampu mengatasi akumulasi radikal bebas yang berlebihan tersebut (Sofia, 2006). Jumlah radikal bebas yang melebihi antioksidan endogen akan membuat radikal bebas mudah bereaksi dengan lemak, protein, dan asam nukleat seluler. Membran sel mengandung sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi sehingga mengalami proses peroksidasi lemak. Komponen lemak yang mengalami peroksidasi akan menarik atom H dari rantai samping PUFA. Proses ini menghasilkan radikal peroksil yang akan menyerang ulang rantai samping PUFA dan menghasilkan radikal karbon baru (Halliwell dan

Gutteridge, 1999). Radikal bebas yang terakumulasi dan ikatan protein dengan ion logam transisi pada fokus daerah tertentu dapat menyebabkan serangan radikal bebas terhadap protein. Begitu pula terhadap asam nukleat, radikal oksigen dapat menyerang DNA jika radikal tersebut terbentuk di sekitar DNA (Arief, 2007). Dengan demikian banyaknya radikal bebas dari asap kendaraan bermotor yang terinhalasi dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan lokal dan disfungsi organ, terutama di saluran pernapasan paru-paru. Sehingga dapat mengakibatkan peningkatan kadar malondialdehid paru

Selain itu, dari hasil penghitungan rata-rata jumlah kadar malondialdehid paru tikus pada ketiga kelompok yang hanya diberi pengasapan tampak ada sedikit perbedaan kadar malondialdehid, namun perbedaannya tidak signifikan satu sama lain ( $p > 0,05$ ). Dengan demikian pada penelitian ini, perbedaan kadar paparan asap yang diwakili oleh lama waktu mesin dalam mengeluarkan asap tidak terlalu berpengaruh pada peningkatan jumlah kadar malondialdehid paru tikus Wistar. Akan tetapi, seharusnya semakin lama waktu pengeluaran asap oleh mesin, semakin banyak kadar yang terinhalasi dan sel radang akan lebih banyak terakumulasi. Zaini (2008) menyebutkan bahwa efek yang ditimbulkan oleh polutan udara terhadap jaringan tubuh tergantung pada konsentrasinya di udara, ukuran polutan terkait lokasi depositnya, lama waktu pemaparan, serta kondisi sistem imun individu yang bersangkutan. Maka dari itu, bila kadar asap yang terinhalasi semakin banyak seharusnya makin banyak pula radikal bebas yang terkumpul dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih parah, sehingga nantinya pengeluaran sel radang ke tempat cedera juga lebih banyak.

Perbedaan jumlah kadar malondialdehid yang tidak signifikan pada ketiga kelompok pengasapan dalam penelitian ini dapat dikarenakan beberapa

faktor, seperti keadaan sekam dan kandang yang berbeda antar kelompok, kondisi tikus yang mungkin stress, kondisi tikus yang sudah agak tua dimana sistem kekebalan tubuh bisa menurun, dan perbedaan lama mesin dalam mengeluarkan asap tidak terlalu jauh antar kelompok. Dari kelompok pengasapan tersebut meskipun hasil analisisnya belum signifikan, tapi hasil penghitungan rata-rata jumlah kadar malondialdehide sudah menunjukkan hasil yang berbeda, dimana kelompok A<sub>3</sub>O<sub>4</sub>(-)G memiliki rata-rata jumlah kadar malondialdehide paru tikus yang lebih banyak dibandingkan kelompok A<sub>2</sub>O<sub>4</sub>(-)G.

## **6.2 Pengaruh Pemberian Oksigen (O<sub>2</sub>) Terhadap Jumlah Jumlah Kadar Malondialdehide (MDA) Paru Tikus Galur Wistar.**

Untuk kelompok normal (+) O<sub>2</sub> didapatkan hasil Jumlah kadar MDA sebesar  $0,0407 \pm 0,0055$  nmol/ml. Pada kelompok ini tikus hanya diberikan paparan oksigen murni 10 mmHg selama 4 menit sesuai lama waktu perlakuan kelompok lainnya. Bila dibandingkan dengan kelompok normal (-), jumlah Kadar MDA kelompok normal (+) O<sub>2</sub> sedikit lebih rendah atau bisa dikatakan hampir sama karena pada uji *Post hoc* tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara 2 kelompok tersebut. Hal ini berarti O<sub>2</sub> yang diberikan pada penelitian ini tidak memberikan pengaruh langsung terhadap peningkatan kadar MDA paru tikus.

Oksigen merupakan faktor penting sebagai sumber energi tubuh, namun di sisi lain oksigen juga dapat menghasilkan radikal bebas di dalam sel. Berbagai sistem protektif tubuh muncul untuk mengatasi kondisi oksidatif tersebut. Dwipayana *et al.* (2010) menyatakan bahwa pemberian oksigen murni dapat meningkatkan kandungan oksigen yang terlarut plasma dan bahkan tekanan parsial oksigen pada jaringan sehingga dapat mengatasi efek hipoksia pada

daerah luka dan memperbaiki kualitas jaringan baru. Akan tetapi, pemberian oksigen yang berlebihan terus-menerus tanpa interval dapat meningkatkan kadar senyawa radikal bebas yang justru akan merusak jaringan dan menyebabkan nekrosis jaringan. Dalam penelitian ini oksigen murni yang diberikan bertujuan untuk mengatasi keadaan hipoksia pada tikus yang diberikan pengasapan. Dan untuk melihat apakah ada pengaruh langsung pada jumlah sel radang alveoli paru tikus, maka dilakukan perlakuan pada kelompok normal (+) O<sub>2</sub> yang diberikan oksigen murni saja. Pada kelompok normal (+) O<sub>2</sub> terlihat bahwa jumlah kadar MDA tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal (-) yang tidak diperlakukan apapun. Hal ini menunjukkan bahwa oksigen murni dengan tekanan 10 mmHg yang diberikan tidak sampai pada tahap meracuni tubuh sehingga diasumsikan tidak mempengaruhi secara langsung terhadap jumlah sel radang pada kelompok tikus pengasapan. Kusno (2011) menyebutkan bahwa oksigen dapat menjadi racun tubuh bila tekanan oksigen lebih tinggi dari 1 bar atau setara dengan 750 mmHg.

### **6.3 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak Terhadap Jumlah Kadar Malondialdehyde (MDA) Paru Tikus Galur Wistar.**

Berdasarkan hasil uji analisis statistik *Post Hoc Uji Mann Whitney* diketahui terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan A<sub>2</sub>O<sub>4</sub>(+) G , G A<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (-) G, A<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (-) G ( $p < 0.05$ ). Dengan demikian dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak kacang tunggak yang mengandung genistein pada tikus *Rattus norvegicus* galur wistar bersamaan dengan paparan asap kendaraan bermotor mampu menghambat terjadinya peningkatan kadar MDA paru tikus *Rattus norvegicus* galur wistar sehingga tidak mengakibatkan kerusakan lebih parah pada organ paru tikus tersebut .

Genistein yang dikandung dalam ekstrak kacang tunggak diduga merupakan antioksidan kuat yang dapat menurunkan kadar lipid peroksidase, meningkatkan enzim *superoxide dismutase* dan menurunkan kadar MDA paru tikus *Rattus norvegicus* strain wistar yang paparan asap kendaraan. Dalam perannya sebagai antioksidan kuat, Genistein mampu mencegah proses oksidasi dari radikal bebas sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan sel. Mekanisme kerjanya secara langsung melalui penangkapan radikal bebas, yaitu dengan mengubah  $O_2^-$  (ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi) yang dikatalisa reaksi dismutasi (Challem, 2005). Genistein sebagai antioksidan kuat dapat menangkap oksigen tunggal ( $O_2$  *singlet oxygen*), radikal peroksil,  $NO_2^-$ ,  $OH^-$  dan ROS lain kemudian mengubahnya menjadi tidak reaktif. Reaksi tersebut menghasilkan radikal karbon yang dapat mengalami dismutasi, menjadikan radikal karbon tersebut tidak lagi bersifat radikal (Halliwell and Gutteridge, 1999). Radikal karbon ini relatif stabil sehingga reaksinya dengan  $O_2$  untuk membentuk radikal peroksil terjadi dengan lambat. Radikal  $Car^-$  juga dapat mengalami reaksi addisi dengan radikal lain, menghasilkan produk non- radikal (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Menurut Challem (2005) genistein bekerja melalui dua jalur, yaitu jalur estrogenik dan jalur non-estrogenik, dimana efek antioksidan genistein ditimbulkan melalui mekanisme kerjanya via jalur estrogenik. Pada jalur estrogenik genistein mempunyai kemampuan mengikat reseptor estrogen  $ER\beta$  dengan afinitas lebih tinggi dibanding reseptor estrogen  $ER\alpha$  (Gilman *et. al.*, 2007). Dengan pengikatan reseptor estrogen tersebut terjadi aktivasi *extracellular-signal regulated kinase* (ERK1/2) yang diikuti translokasi  $NF\kappa B$  ke nukleus. Translokasi tersebut mengakibatkan peningkatan ekspresi MnSOD yang

bersifat sebagai antioksidan (Borras *et. al.*, 2006). Dengan demikian antioksidan alami tubuh menjadi lebih tinggi dan mampu mengimbangi peningkatan kadar radikal bebas sehingga stres oksidatif dalam tubuh juga bisa berkurang.

Selain itu, genistein juga bisa menghambat reaksi radikal bebas secara langsung dengan menghambat peroksidasi lemak akibat reaksi radikal bebas dan menghambat produksi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) (Wei *et al.*, 2002). Hal ini mungkin dikarenakan adanya gugus hidroksil pada genistein yang dapat menangkap dan mengubah ion superoksida. Dengan demikian senyawa radikal bisa menjadi inaktif dan efek reaktivitas radikal bebas dapat dihambat (Winarsi, 2007). Dengan adanya efek antioksidan tersebut, pada akhirnya kerusakan sel akibat serangan radikal bebas, seperti peroksidasi lemak, kerusakan protein dan DNA bisa berkurang. Reaksi inflamasi yang mungkin timbul juga dapat dihambat sehingga jumlah sel radang pun akan menurun.

Perlu diketahui bahwa ekstrak kacang tunggak yang diberikan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar. Hal ini berarti tidak hanya genistein murni yang terkandung di dalamnya, namun masih terdapat pula kandungan zat-zat lainnya yang mungkin juga memiliki efek antioksidan ataupun antiinflamasi. Adanya kandungan lain tersebut juga dapat menambah efek pencegahan peningkatan kadar malondialdehid paru tikus.

Salah satu contohnya adalah quercetin yang juga merupakan flavonoid dalam kacang tunggak. Meskipun dalam penelitian ini tidak diukur kadar quercetin dalam ekstrak kacang tunggak, tapi mungkin turut mempengaruhi dalam pencegahan peningkatan kadar malondialdehid paru tikus, Sesuai tinjauan pustaka bahwa quercetin juga mempunyai efek antiinflamasi yang ditunjukkan melalui beberapa mekanisme, antara lain quercetin telah dibuktikan

memiliki kemampuan dalam menghambat siklooksigenase-2 (COX-2) tanpa menghambat siklooksigenase-1 (COX-1) (Lelo *et. al.*, 2004) dan menghambat ekspresi atau aktivitas dari iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) sehingga produksi NO yang merupakan proinflamasi juga dapat terhambat (Hamalainen *et. al.*, 2007). Mekanisme antiinflamasi quercetin yang lain yaitu dengan penghambatan *high mobility group box 1* (HMGB1) yang berefek proinflamasi. Quercetin dapat menghambat pelepasan HMGB1 dari makrofag dan juga menekan aktivitas proinflamasi HMGB1 dalam menginduksi IL-1 $\beta$  dan TNF $\alpha$  (Tang *et. al.*, 2009).

Tidak hanya quercetin, mungkin masih ada kandungan flavonoid lain atau bahkan senyawa lainnya dalam ekstrak kacang tunggak yang digunakan di penelitian ini, yang turut mempengaruhi aktivitas antioksidan ataupun antiinflamasi ekstrak kacang tunggak. Oleh karena itu, masih dimungkinkan adanya penelitian selanjutnya yang meneliti efek langsung kandungan lainnya selain genistein dalam ekstrak kacang tunggak yang dapat mencegah peningkatan kadar malondialdehide paru tikus.