

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kehamilan

Perkembangan seorang manusia dimulai dari pembuahan, suatu proses dimana spermatozoa dari pria dan oosit dari wanita bergabung membentuk suatu organisme baru yaitu zigot (Sadler, 2009). Proses kehamilan terjadi setelah berlangsungnya fertilisasi. Fertilisasi adalah proses penyatuan gamet pria dan wanita, yang terjadi di daerah ampulla tuba fallopii. Spermatozoa bergerak dengan cepat dari vagina ke rahim dan selanjutnya masuk ke dalam saluran telur. Pergerakan naik ini disebabkan oleh kontraksi otot-otot uterus dan tuba. Sebelum spermatozoa dapat membuahi oosit, mereka harus mengalami proses kapabilitas dan reaksi akrosom (Sadler, 2009).

##### 2.1.1 Nutrisi Embrio Selama Kehamilan

Progesteron yang disekresikan pada pertengahan setiap siklus seksual mempunyai pengaruh khusus terhadap endometrium untuk mengkonversi sel-sel stroma endometrium menjadi sel-sel besar yang sembab, yang mengandung sejumlah besar glikogen, protein, lipid, dan bahkan beberapa mineral yang penting untuk perkembangan zigot. Bila sebuah zigot berimplantasi pada endometrium, sekresi endometrium selanjutnya masih menyebabkan sel-sel stroma membengkak dan bahkan lebih banyak menyimpan nutrisi. Sel-sel ini disebut sebagai sel-sel decidua, dan masa sel secara keseluruhan disebut decidua (Guyton dan Hall, 2010)

Selama minggu pertama implantasi, sel-sel trofoblas yang menembus decidua mencerna dan meminum nutrisi yang tersimpan dalam decidua untuk dipergunakan dalam pertumbuhan dan perkembangan embrio. Cara ini merupakan satu-satunya cara bagi embrio untuk memperoleh nutrisi atau makanan dan embrio akan terus memperoleh sejumlah besar nutrisi total dengan cara ini selama 8-12 minggu (Guyton dan Hall, 2010). Proses invasi trofoblas tahap kedua mencapai bagian miometrium arteri spiralis terjadi pada kehamilan 14-15 minggu dan saat ini perkembangan plasenta telah lengkap. (Prawirohardjo, 2009).

Darah ibu yang mengalir ke seluruh plasenta diperkirakan meningkat dari 300 ml tiap menit pada kehamilan 20 minggu sampai 600 ml pada kehamilan 40 minggu. Permukaan semua villi koriales diperkirakan seluas lebih kurang 11 m<sup>2</sup>. Dengan demikian pertukaran zat-zat makanan terjamin benar (Prawiroharjo, 2009).

Fungsi plasenta ialah mengusahakan janin tumbuh dengan baik. Untuk pertumbuhan ini dibutuhkan adanya penyaluran zat asam, asam amino, vitamin dan mineral dari ibu ke janin, dan pembuangan CO<sub>2</sub> serta sampah metabolisme janin ke peredaran darah ibu. Maka dapat dinyatakan bahwa salah satu fungsi plasenta adalah sebagai alat yang memberikan makanan pada janin (Prawiroharjo, 2009). Sehingga kecukupan kebutuhan nutrisi janin sangat tergantung pada baik tidaknya plasenta menjalankan fungsinya.

## 2.2 Berat Badan Lahir Rendah (BBLR)

Berat badan merupakan ukuran antropometri yang sangat penting dan paling sering digunakan pada bayi baru lahir (neonatus). Berat badan digunakan

untuk mendiagnosa bayi normal atau BBLR. Dikatakan BBLR apabila berat badan bayi lahir dibawah 2500 gram atau dibawah 2,5 kg. Pada masa bayi maupun balita, berat badan dapat digunakan untuk melihat laju pertumbuhan fisik maupun status gizi, kecuali terdapat kelainan klinis seperti dehidrasi, asites, edema dan adanya tumor (Wulandari,2011).

BBLR adalah bayi yang lahir dengan berat badan kurang dari 2500 gram tanpa memperhatikan umur kehamilan. BBLR merupakan salah satu faktor utama yang berpengaruh terhadap kematian perinatal dan neonatal. Bayi yang dilahirkan berisiko meninggal dunia sebelum berumur satu tahun 17 kali lebih besar dari bayi yang dilahirkan dengan berat badan normal. (Depkes RI, 2005)

BBLR adalah salah satu hasil dari ibu hamil yang menderita kekurangan energi kronis dan akan mempunyai status gizi buruk. BBLR berkaitan dengan tingginya angka kematian bayi dan balita, juga dapat berdampak serius pada kualitas generasi mendatang, yaitu akan memperlambat pertumbuhan dan perkembangan anak, serta berpengaruh pada penurunan kecerdasan (Depkes RI, 2005).

Prevalensi Bayi BBLR diperkirakan 15% dari seluruh kelahiran di dunia dengan batasan 3,3% - 38% dan lebih sering terjadi di negara-negara berkembang atau sosial ekonomi rendah. Secara statistik menunjukkan 90% kejadian BBLR didapatkan di negara berkembang dan angka kematiannya 35 kali lebih tinggi dibandingkan pada bayi dengan berat lahir lebih dari 2500 gram. (WHO, 2005)

### **2.2.1 Dismaturitas**

Dismaturitas adalah bayi yang lahir dengan berat badan kurang dari berat badan seharusnya untuk masa gestasi itu. Berarti bayi mengalami retardasi

pertumbuhan intrauterin dan merupakan bayi yang Kecil untuk Masa Kehamilannya (KMK) (Yongky, 2007).

Pengertian berat badan kurang dari berat badan yang seharusnya untuk masa gestasi tertentu ialah kalau berat badannya lahirnya dibawah persentil ke 10 menurut kurva pertumbuhan intrauterin Lubcernco atau dibawah 2SD menurut kurva pertumbuhan intrauterin Ushe dan Mc.Lean. Dismaturitas dapat terjadi baik pada preterm maupun postterm. Penyebab dismaturitas adalah adanya setiap keadaan yang mengganggu pertukaran zat antara ibu dan janin (Yongky, 2007).

Pertumbuhan janin terhambat adalah kondisi dimana janin di dalam rahim tidak tumbuh dengan normal, terjadi BBLR baik kecil dari umur kehamilan atau preterm. Preterm adalah janin yang pertumbuhannya sesuai dengan usia kehamilan, tetapi dilahirkan sebelum aterm, sementara apabila pertumbuhan dalam rahim kecil terhadap umur kehamilannya karena sebab utamanya adalah insufisiensi plasenta (Yongky, 2007).

### **2.2.2 Faktor-faktor penyebab terjadinya BBLR**

Keadaan-keadaan yang merupakan predisposisi gangguan pada besarnya janin ibu yang kecil. 'pertambahan berat yang jelek pada ibu, penyakit vaskuler penyakit ginjal kronis, hipoksia kronis, anemia ibu, merokok, obat-obat keras, konsumsi kronis alkohol , kelainan plasenta dan tali pusat, janin multiple, infeksi janin, malformasi janin, kehamilan ekstra uterin. (Santosa, 2013)

Faktor-faktor penyebab diatas memungkinkan terjadinya dismatur. Hal ini dapat terjadi karena fungsi plasenta yang insufisiensi sebagai akibat gangguan perfusi maternal maupun terhalangnya fungsi plasenta atau keduanya. Juga

dapat menyebabkan kelainan denyut jantung janin dan adanya mekonium di dalam cairan amnion, yang disebut distress janin. (Santosa, 2013)

Faktor plasenta juga mempengaruhi pertumbuhan janin yaitu besar dan berat plasenta, tempat melekat plasenta pada uterus, tempat insersi tali pusat, dan kelainan plasenta. Kelainan plasenta terjadi karena tidak berfungsinya plasenta dengan baik sehingga menyebabkan gangguan sirkulasi oksigen dalam plasenta. Lepasnya sebagian plasenta dari perlekatannya dan posisi tali pusat yang tidak sesuai dengan lokasi pembuluh darah yang ada di plasenta dapat mengakibatkan terjadinya gangguan aliran darah plasenta ke janin sehingga pertumbuhan janin terhambat (Cunningham *et al.*, 2005).

### 2.3 Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji digolongkan ke dalam kelas Mamalia, bangsa Rodentia, suku Muridae dan marga Rattus. Tikus merupakan salah satu hewan mamalia yang mempunyai peranan penting untuk tujuan ilmiah, karena memiliki daya adaptasi yang baik (Samsuria, 2009).

Tikus mencapai dewasa kelamin pada umur 50-60 hari, vagina mulai terbuka pada umur 35-90 hari dan testis turun/keluar pada umur 20-50 hari. Anak yang sehat dan kuat dihasilkan bila tikus mulai dikawinkan pada umur 65-110 hari, yaitu pada saat bobot badan betina mencapai 250 g dan jantan 300 g (Malole dan Pramono 1989)

Umur dewasa tikus dicapai saat 3-4 bulan, dengan masa kebuntingan rata-rata 21-22 hari. Kebanyakan tikus mulai kawin pada umur 8-9 minggu. Waktu kawin tikus dilakukan pada masa estrus. Siklus estrus adalah suatu kegiatan fisiologik hewan betina dengan ciri-ciri khusus yang ditandai dengan

keinginan untuk kawin. Siklus estrus berlangsung sekitar 4–5 hari dan segera sesudah beranak (post-partum estrus). Untuk mengetahui tahapan pada siklus estrus, dilakukan ulas vagina atau *papsmear*. Berdasarkan histologi vagina, siklus estrus pada tikus dibagi menjadi empat fase yaitu: a) proestrus, b) estrus, c) metestrus, dan d) diestrus (Samsuria, 2009).

Fase proestrus merupakan fase persiapan, yaitu fase yang mendahului estrus dan berlangsung selama 12 jam. Pada fase ini terjadi involusi fungsional corpus luteum serta pembengkakan praovulasi folikel. Folikel ovarium yang tumbuh penuh (mature) akan meningkatkan sekresi estrogen di dalam darah. Pengaruh dari estrogen akan meningkatkan pertumbuhan uterus dan frekuensi mitosis endometrium selama fase folikuler. Pada fase ini gambaran epitel vagina didominasi oleh sel-sel epitel berinti, yang muncul secara tunggal atau berbentuk lapisan (Hayatin, 2007).

Fase estrus merupakan periode birahi dan keinginan untuk kopulasi (betina bersedia menerima pejantan untuk kawin) dimungkinkan hanya pada saat ini). Setiap siklus berlangsung selama 12 jam dan estrus dimulai pada malam hari. Kondisi ini berakhir 9 sampai 15 jam di bawah pengaruh FSH. Pada fase ini folikel ovarium tumbuh dengan cepat dan terjadi sekresi estrogen yang tinggi. Estrus juga terjadi saat fase folikuler. Uterus mengalami pembesaran progresif dan menjadi bengkak karena akumulasi cairan lumen. Cairan yang terkumpul di dalam uterus menyebabkan uterus menjadi sangat kontraktile. Mukosa vagina mengalami banyak mitosis dalam pembentukan sel-sel baru. Penimbunan sel-sel tersebut pada lapisan permukaan menjadi squamosa dan menanduk. Sel-sel menanduk ini terkelupas ke dalam lumen vagina pada saat pemeriksaan preparat ulas vagina dan dipakai sebagai petunjuk estrus. Menjelang estrus berakhir di dalam lumen vagina terdapat massa seperti keju yang terdiri atas sel-

sel menanduk dengan inti berdegenerasi, namun ditemukan sedikit saja leukosit. Ovulasi terjadi selama estrus dan didahului oleh perubahan histologik di dalam folikel yang menunjukkan adanya luteinisasi awal. Banyak cairan lumen yang hilang sebelum ovulasi. Apabila terjadi kebuntingan, siklus terganggu selama masa gestasi (Pardede, 2007).

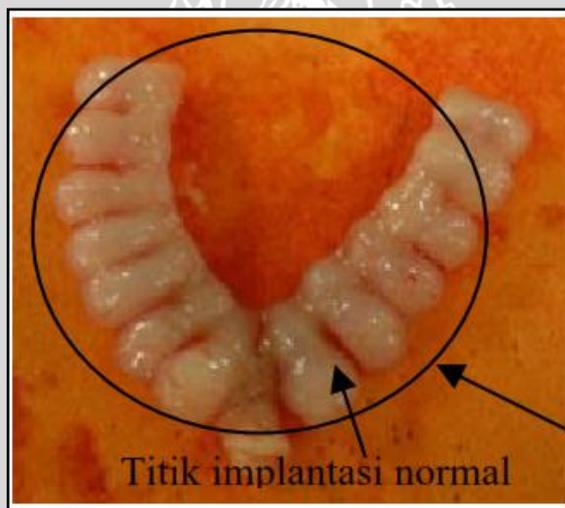
Fase metestrus merupakan kelanjutan dari fase estrus dan berlangsung selama 6-15 jam. Fase ini ditandai dengan tumbuhnya sel-sel granulosa folikel dengan cepat yang dipengaruhi oleh *luteinizing hormone* (LH) dari adenohypofisa. Fase metestrus dapat diketahui dengan adanya dominasi sel-sel tanduk dan sel-sel leukosit jika dilihat dengan menggunakan metode ulas vagina (Pardede, 2007).

Fase diestrus merupakan fase terpanjang diantara fase-fase siklus estrus lainnya. Fase diestrus berlangsung selama 60 – 70 jam. Pada fase ini kontraksi uterus menurun, endometrium menebal dan kelenjar-kelenjar mengalami hipertropi, serta mukosa vagina menipis, warna lebih pucat dan leukosit yang bermigrasi semakin banyak. Gambaran ulas vagina pada fase ini menunjukkan leukosit dalam jumlah yang banyak (Hayatin, 2007).

Sifat reproduksi tikus menyerupai mamalia besar, memiliki interval generasi yang pendek dan berukuran kecil sehingga memudahkan dalam pemeliharaan serta efisien dalam konsumsi pakan (10 gram/100 gram berat badan). Berat badan tikus jantan dewasa sekitar 450–520 gram, dan tikus betina dewasa sekitar 250 – 300 gram. Tikus memiliki jumlah anak yang banyak per kelahiran (6-12 ekor), dengan berat lahir antara 5–6 gram, dan memiliki kecepatan tumbuh 5 gram/hari (Smith dan Mangkoewidjojo 1988)

### 2.3.1 Perkembangan Embrio Tikus

Pembelahan sel yang pertama pada tikus maupun mencit terjadi 24 jam (1 hari) setelah pembuahan. Pembelahan terjadi secara cepat di dalam oviduk dan berulang-ulang. Menjelang hari kedua setelah pembuahan embrio sudah terbentuk morula 16 sel. Bersamaan dengan pembelahan, embrio bergulir menuju uterus. Menjelang hari ketiga kehamilan embrio telah masuk kedalam uterus, tetapi masih berkelompok-kelompok. Pada akhirnya embrio akan menyebar disepanjang uterus dengan jarak yang memadai untuk implantasi dengan ruang yang cukup selama pertumbuhan (Samsuria, 2009).



**Gambar 2.1 Bentuk uterus tikus hamil** (Samsuria, 2009)

Organ uterus plasenta tikus bunting diatas memiliki  $\pm$  13 titik implantasi. Pada akhir tahap pembelahan akan terbentuk blastula. Blastula akan membentuk massa sel dalam dan *tropectoderm* yang akan berkembang menjadi plasenta. Massa sel dalam akan berkembang menjadi *hipoblast* dan *epiblast*, dimana *epiblast* akan berkembang menjadi embrio sedangkan *hipoblast* akan berkembang menjadi selaput ekstra embrio. Selanjutnya blastomer akan terimplantasi pada hari keempat kehamilan dan berakhir pada hari keenam kehamilan. Kemudian diikuti proses gastrulasi, yakni adanya perpindahan sel

dan diferensiasi untuk membentuk lapisan *ectoderm*, *mesoderm* dan *endoderm*. Akhir tahap perkembangan adalah proses pembentukan organ dari lapisan *ectoderm*, *mesoderm*, *endoderm* dan derivat-derivatnya (Widodo, 2006).

## 2.4 Plasenta

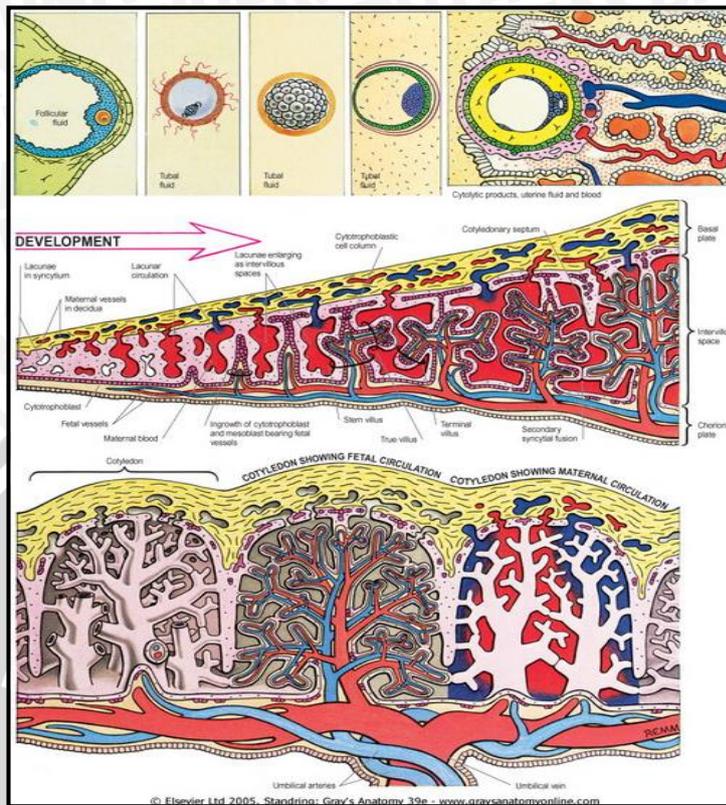
Plasenta adalah suatu organ yang luar biasa, terutama apabila kita melihat fungsinya. Selama keberadaannya yang singkat di dalam uterus, janin bergantung pada plasenta sebagai paru, hati, dan ginjalnya (Cunningham *et al.*, 2005). Salah satu indikator kesejahteraan janin bisa dilihat pada plasenta. Gangguan yang terjadi pada plasenta akan berdampak pada ibu hamil maupun janinnya.

### 2.4.1 Embriologi Plasenta

Hasil fertilisasi berupa blastomer akan menjadi blastokista yang terdiri dari *inner cell mass* di bagian dalam dan trofoblas di bagian luar. *Inner cell mass* akan berkembang menjadi janin sedangkan trofoblas bersama sel desidua endometrium akan membentuk plasenta (Sadler, 2010).

Proses perkembangan plasenta terjadi setelah aposisi dan melekatnya trofoektoderm blastokista ke sel epitel endometrium, sitotrofoblas berproliferasi secara cepat dan menginvasi desidua di sekitarnya. Pada akhir minggu ke-3 pembuluh darah ibu menembus selubung sitotrofoblas untuk masuk ke ruang antarvilus yang mengelilingi vilus. Kapiler di vilus berkontak dengan pembuluh darah di lempeng korion dan di tangkai penghubung yang selanjutnya berhubungan dengan pembuluh darah intraembrional (Sadler, 2010).

Berikut merupakan gambar skematik perkembangan plasenta.



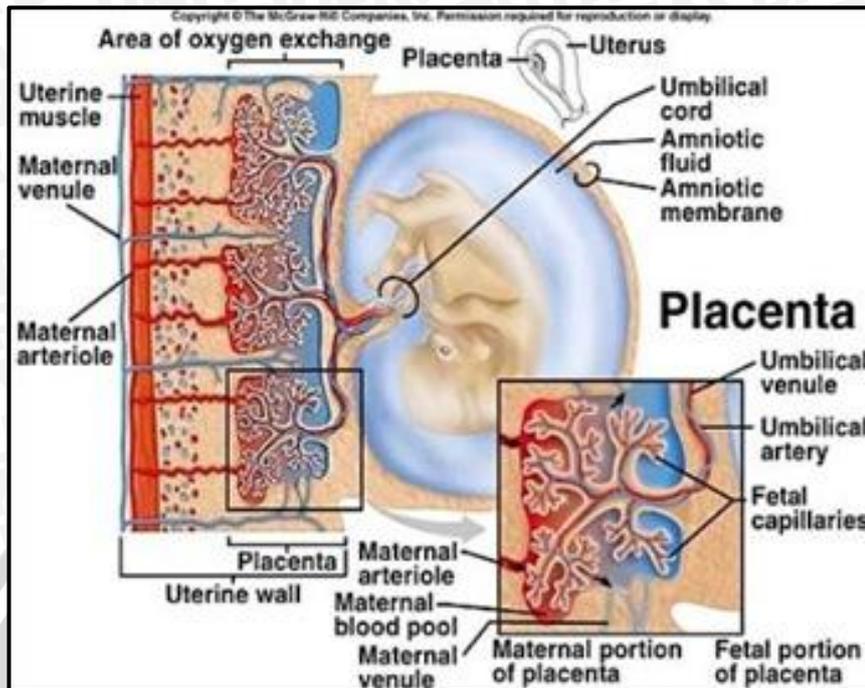
**Gambar 2.2 Skema Perkembangan Plasenta**  
([www.graysanatomyonline.com](http://www.graysanatomyonline.com))

#### 2.4.2 Fungsi Plasenta

Fungsi utama plasenta adalah mempertukarkan produk metabolik dan gas antara sirkulasi ibu dan janin serta menghasilkan hormon (Sadler, 2010).

##### a. Sirkulasi

Pertukaran gas seperti oksigen, karbon dioksida, dan karbon monoksida berlangsung melalui difusi sederhana. Aliran darah plasenta sangat penting bagi pasokan oksigen, karena jumlah oksigen yang mencapai janin terutama ditentukan oleh penyaluran bukan difusi.



**Gambar 2.3 Skema Sistem Sirkulasi Plasenta Aterm**  
 (<http://obginumj.blogspot.com>)

Homeostasis janin bergantung pada sirkulasi fetomaternal. Sistem sirkulasi fetal terdiri atas dua arteri dan satu vena, dimana arteri membawa darah terdeoksigenasi dari tubuh fetal ke plasenta dan vena membawa darah kaya oksigen dari plasenta ke tubuh fetal. Di plasenta, darah ibu masuk melalui lempeng basal dan terdorong ke atas (lempeng korion) oleh puncak tekanan arteri ibu. Setelah membasahi permukaan mikrovilus eksterna vilus korion, darah ibu mengalir kembali melalui lubang-lubang vena di lempeng basal dan masuk ke vena-vena uterus ibu. Dengan demikian, darah ibu mengalir melintasi plasenta secara acak tanpa melalui saluran-saluran yang sudah ada, didorong oleh tekanan arteri ibu. Di ruang antarvilus,  $O_2$  dan  $CO_2$  berdifusi cepat melalui pembuluh darah fetal (Cunningham *et al.*, 2005).

#### b. **Pertukaran produk metabolik dan produksi hormon**

Pertukaran nutrien dan elektrolit misalnya asam amino, asam lemak bebas, karbohidrat, dan vitamin berlangsung cepat dan meningkat seiring dengan kemajuan kehamilan. *Antibody* berupa *Immunoglobulin G* (IgG) disalurkan dari ibu ke janin sehingga janin memperoleh kekebalan pasif terhadap berbagai penyakit infeksi. Selama dua bulan pertama kehamilan, sinsitiotrofoblas menghasilkan *human chorionic gonadotrophin* (HCG) yang berfungsi untuk mempertahankan korpus luteum agar memproduksi hormon. Setelah empat bulan, maka sinsitiotrofoblas memproduksi sendiri hormon seperti estrogen dan progesteron yang dibutuhkan untuk menunjang kehamilan. Hormon lain yang dihasilkan plasenta adalah *human placenta lactogen* (HPL). HPL mirip hormon pertumbuhan yang memprioritaskan glukosa darah ibu bagi janin dan juga menstimulasi kelenjar payudara untuk menghasilkan susu (Sadler, 2010).

#### 2.5 **Asap Rokok**

Rokok mengandung zat organik berupa gas maupun partikel yang telah diidentifikasi dari daun tembakau maupun asap rokok. Bahan tersebut umumnya bersifat toksik, karsinogenik di samping beberapa bahan yang bersifat radioaktif dan adiktif. Komponen dalam rokok dapat dibedakan dalam dua bentuk yaitu fase gas dan fase tar (fase partikulat). Asap rokok mengandung berbagai bahan kimia lebih dari 4000 macam, yang merupakan campuran antara gas, partikel, dan cairan dengan diameter 0.3 IU serta oksidan, 400 diantaranya beracun dan kira-kira 43 senyawa yang bersifat karsinogenik (Aditama, 2006). Setiap isapan rokok mengandung  $10^{14}$  radikal bebas dan  $10^{16}$  oksidan, yang semuanya akan terhisap ke dalam paru (Halliwell and Gutteridge, 2000). Diantara sekian banyak

bahan kimia yang terkandung pada asap rokok, ada tiga macam bahan kimia yang paling berbahaya yaitu tar, nikotin, dan karbon monoksida (Revianti, 2007).

Merokok dapat menyebabkan berbagai macam gangguan kesehatan, baik bagi perokok itu sendiri maupun orang lain yang terpapar asap rokok. Berdasarkan sumbernya paparan asap rokok ada dua, yakni: utama dan sampingan. Asap rokok yang dihisap ke dalam paru-paru oleh perokoknya disebut asap rokok utama (*main stream smoke*) atau disebut perokok aktif, sedang asap yang berasal dari ujung rokok yang terbakar disebut asap rokok sampingan (*side stream smoke*) atau perokoknya disebut perokok pasif. Asap rokok sampingan merupakan asap yang 3 kali lebih berbahaya dari asap rokok utama yang dihisap oleh perokok (Depkes, 2011). *Global Youth Tobacco Survey* (2006) menunjukkan bahwa 64,2% pelajar terpapar sebagai perokok pasif di rumah dan 81,0% terpapar di tempat umum (Kosen, 2008), atau sekitar 43 juta anak Indonesia hidup serumah dengan perokok dan terpapar asap tembakau pasif yang dihasilkan dari perokok sehingga membentuk lingkungan berasap tembakau atau *Environmental Tobacco Smoke* (ETS). Lebih lanjut, WHO mendefinisikan perokok pasif sebagai orang yang tidak merokok yang terpapar ETS minimal 15 menit perhari, termasuk ibu hamil. Belum tegasnya larangan merokok di tempat umum menyebabkan ibu hamil tidak bisa terhindar dari paparan asap rokok (perokok pasif).

Paparan asap rokok terhadap ibu selama kehamilan akan meningkatkan risiko terjadinya plasenta previa, ketuban pecah dini (KPD), dan lepasnya plasenta sebelum bayi lahir (solusio plasenta), sedangkan dampak terhadap janin adalah berat bayi lahir rendah (BBLR), *intra uterine growth restriction* (IUGR) meningkatkan risiko kematian janin mendadak atau *sudden infant death syndrome* (SIDS) (Kamath *et al.*, 2006; Valleria, 2006). Hal ini sejalan dengan

penelitian yang dilakukan oleh *British Medical Association Tobacco Control Resource Centre* menunjukkan bahwa ibu yang merokok selama kehamilan memiliki resiko melahirkan berat bayi lahir rendah (BBLR) sebesar 1,5-9,9 kali. Dampak rokok terhadap kehamilan pada trimester pertama adalah meningkatkan risiko keguguran (Amiruddin, 2009) dan pada trimester terakhir adalah meningkatkan risiko persalinan prematur (Razak, 2005).

### 2.5.1 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus, atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar, termasuk atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Adanya 'elektron tidak berpasangan' ini, menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion), atau tidak bermuatan (Halliwell dan Gutteridge, 2000). Suatu radikal bebas dapat menyerang dan mendegradasi asam nukleat serta berbagai molekul membran dan menginisiasi reaksi katalitik. Molekul yang bereaksi dengan radikal bebas juga akan diubah menjadi radikal bebas sehingga semakin memperpanjang rantai kerusakan (Kumar dan Stanley., 2007). Dalam rangka mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan segera berikatan dengan bahan sekitarnya. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektron, zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi kerusakan sel tersebut (Droge, 2002)

Radikal bebas berdasarkan sumbernya ada dua yakni endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen secara normal dihasilkan oleh sel aerobik

melalui rangkaian reaksi fosforilasi oksidatif metabolisme oksigen di mitokondria. Reduksi oksigen menjadi air di dalam mitokondria untuk produksi ATP terjadi melalui donasi 4 elektron pada oksigen. Selama proses ini terbentuk beberapa senyawa turunan oksigen. Sumber radikal bebas lainnya adalah melalui aktivitas enzim-enzim seluler seperti *xantin oksidase* dan *nitrit oksida sintetase*. Plasenta yang mengalami iskemik juga melepaskan radikal bebas. Radikal bebas sendiri dibutuhkan oleh sel-sel sistem imun untuk melawan infeksi bakteri. Radikal bebas eksogen dapat berasal dari polusi lingkungan seperti asap kendaraan, asap rokok, obat-obatan, bahan pencemar dan beberapa jenis radiasi (Prawirohardjo, 2009).

Radikal bebas secara garis besar dibagi menjadi dua, yaitu *reactive oxygen species (ROS)* dan *reactive nitrogen species (RNS)* (Droge, 2002). Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*), termasuk didalamnya adalah triplet ( $3O_2$ ), tunggal (singlet/ $1O_2$ ), anion superoksida ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil ( $-OH$ ), nitrit oksida ( $NO^-$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), asam hipoklorus ( $HOCl$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), radikal alkoxy ( $LO^-$ ), dan radikal peroksil ( $LO_2$ ). Radikal bebas yang mengandung karbon ( $CCL_3$ ) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H ( $H^-$ ). Bentuk lain adalah radikal yang mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi glutation menghasilkan radikal thiyl ( $R-S^-$ ). Radikal yang mengandung nitrogen juga ditemukan, misalnya radikal fenyldiazine. (Arif, 2007)

Paparan asap rokok dalam penelitian bisa dilakukan dengan paparan akut, subakut, maupun kronis. Penelitian Paparan toksisitas akut dilakukan dalam dengan memapar hewan coba dengan toksin dalam jangka waktu jam.

Penelitian toksisitas subakut umumnya dilakukan 14-21 hari. Penelitian toksisitas kronis dilakukan dalam jangka waktu yang lama, bisa sampai beberapa bulan (Staf Pengajar Departemen Farmakologi FKUNSRI,2004)

### 2.5.2 Malondialdehyde (MDA)

MDA adalah senyawa dialdehide yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid didalam tubuh, MDA juga merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Oleh sebab itu, konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. MDA dapat bereaksi dengan komponen nukleofilik atau elektrofilik. MDA dapat berikatan dengan berbagai molekul biologis seperti protein, asam nukleat, dan amino fosfolipid secara kovalen (Winarsi, 2007). MDA bersifat mutagenik pada bakteri dan sel mamalia serta bersifat karsinogenik pada tikus (Marnett, 2000).

### 2.5.3 Kerusakan Sel dan Jaringan akibat Radikal Bebas

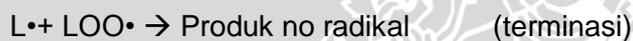
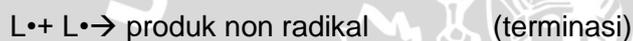
*Reactive oxygenspecies* menyebabkan kerusakan dengan berbagai mekanisme yaitu:

- 1) Melalui proses peroksidasi lipid

Membran adalah struktur kompleks yang terdiri dari lipid, protein dan karbohidrat. Komponen utama lipid adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol. Fosfolipid mengandung asam lemak tak jenuh ganda (PUFA). Terdiri dari *linoleat*, *linolenat*, dan *arakhidonat* sangat rentan terhadap radikal bebas (Murray.2009). Peroksida lipid didefinisikan sebagai perusakan secara oksidatif terhadap asam lemak tidak jenuh berantai panjang atau *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Jenis reaksi ini merupakan auto-oksidasi radikal bebas,

memerlukan suatu inisiator misalnya radikal hidroksil (OH•) agar reaksi berantai tersebut dapat berjalan. Peroksidasi biasanya dimulai dengan ekstraksi atom hidrogen yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap terkonjugasi dalam asam lemak (Marks *et al.*, 2000).

Peroksidasi lipid yang diperantarai ROS mempunyai tiga komponen utama reaksi, yaitu reaksi inisiasi, propagasi, dan terminasi (Setiawan dan Suhartono, 2007)



a) Inisiasi

Lipid dinyatakan sebagai LH dan biasanya berupa asam lemak tak jenuh ganda. Peroksidasi asam lemak tak jenuh merupakan reaksi rantai radikal bebas yang diinisiasi oleh abstraksi atom hidrogen pada gugus metilen rantai asam lemak (Diendrich *et al.*, 2001)

Besi merupakan katalis peroksidasi lipid yang bersifat merusak. Besi dapat memicu dan memperkuat peroksidasilipid. Tahap inisiasi dapat dipicu oleh dua mekanisme yang bergantung pada besi. Kedua mekanisme tersebut terdiri atas mekanisme yang bergantung dan yang tidak bergantung radikal hidroksil. Pada mekanisme yang bergantung radikal hidroksil, peroksidasi lipid dipicu oleh radikal hidroksil yang dibentuk pada reaksi Fenton dengan besi sebagai reaktan. Pada mekanisme yang tidak bergantung radikal hidroksil, peroksidasi lipid dipicu oleh kompleks besi-oksigen, berupa ion perferil dan ferril (Schafer *et al.*, 2000)

b) Propagasi

Kecepatan reaksi propagasi ditentukan oleh energy disosiasi ikatan karbon-hidrogen rantai lipid. Ikatan karbonhidrogen yang paling lemah terletak pada posisi metilen *bisallylik*, dengan energi ikatan karbon-hidrogen sebesar 75 kkal/mol dibandingkan energi pada posisi alkil C-H sebesar 101 kkal/mol (Setiawan dan Suhartono, 2007). Apabila radikal karbon bereaksi dengan oksigen, akan terbentuk radikal peroksil. Radikal peroksil dapat mengasbtraksi atom hidrogen pada lipid yang lain. Apabila terjadi abstraksi atom hidrogen lipid lain oleh radikal peroksil, akan terbentuk lipid hidroperoksida. Lipid hidroperoksida adalah produk primer peroksidasi yang bersifat sitotoksik. Melaluipemanasan atau reaksi yang melibatkan logam, lipid hidroperoksida akan dipecah menjadi produk peroksidasi lipid sekunder, yakni radikal lipid alkoksil dan peroksi lipid. Radikal lipid alkoksil dan lipid peroksil juga dapat menginisiasi reaksi rantai lipid selanjutnya. Selain itu, radikal lipid alkoksil akan melangsungkan reaksi *beta cleavage* membentuk aldehid sitotoksik dan genotoksik (Diendrich *et al.*, 2001). Aldehid pada produk tersebut terlibat pada sebagian besar patofisiologi terkait stres oksidatif pada sel maupun jaringan dan merupakan produk akhir peroksidasi lipid. Meskipun sebagai produk akhir, secara kimiawi aldehid tersebut tetap aktif dan mempunyai kereaktifan terhadap berbagai biomolekul, termasuk protein dan fosfolipid (Setiawan dan Suhartono, 2007)

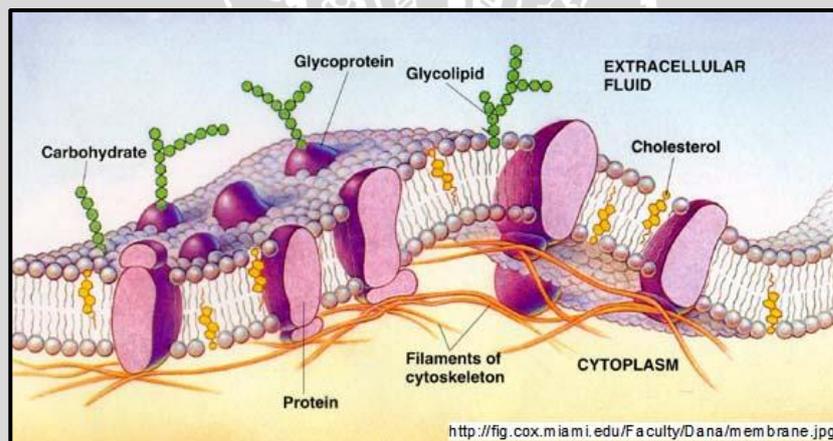
c) Terminasi

Radikal karbon yang terbentuk pada reaksi inisiasi cenderung menjadi stabil melalui reaksi dengan radikal karbon maupun radikal lain yang terbentuk pada tahap propagasi. Reaksi peroksidasi lipid, selain dipicu oleh katalis besi, juga dapat dipicu dan menghasilkan berbagai SOR. Apabila proses tersebut tidak

diredam oleh *scavenger* alamiah, kerusakan akan terjadi pada berbagai struktur penting asam lemak tak jenuh pada membran fosfolipid. Selain itu, kerusakan peroksidatif tersebut dapat dirambatkan oleh reaksi rantai berulang (Uslu *et al.*, 2003)

## 2) Modifikasi oksidasi protein

Radikal bebas meningkatkan oksidasi rantai samping residu asam amino, pembentukan protein-protein *cross-link*. Modifikasi oksidasi meningkatkan degradasi enzim-enzim penting oleh kompleks proteosom katalitik yang akan meningkatkan kerusakan sel.



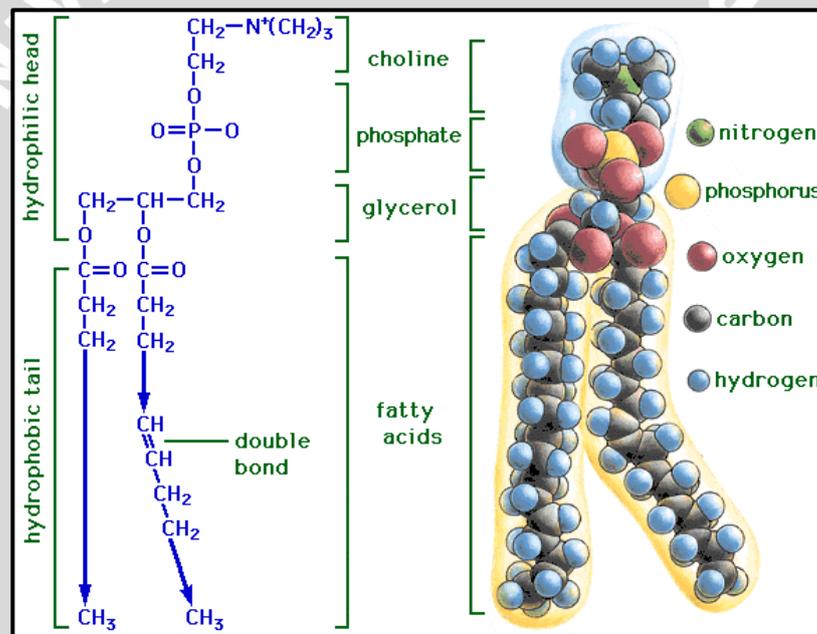
**Gambar 2.4 Struktur Membran *Lipid Bilayer***

<http://www.tutorvista.com>

Struktur membran sel terdiri dari lipid dan protein dengan proporsi bervariasi sesuai dengan lokasi dan fungsi membran. Misalnya membran mitokondria mengandung 76% protein dan 24% lipid. Lipid mempunyai sifat *amphiphatic* dengan *hidropholic polar heads* menghadap keluar (ekstraseluler dan menghadap sitoplasma) sedangkan bagian *hydrophobic* berada di dalam

rongga dan protein dapat tertanam di dalam *bilayer* (protein transmembran). Ketebalan membran sel kira-kira 5 nm (Alberts *et al.*, 2008).

Salah satu lipid penting yang menyusun membran adalah fosfolipid dengan satu kepala polar dan dua ekor hidrokarbon memanjang. Ujung atas adalah gugus polar  $\text{NH}_3$  yang dihubungkan oleh gliserol dengan dua asam lemak yang merupakan bagian ekor. Satu ekor rantai asam lemak mempunyai struktur lurus dengan ikatan jenuh (*saturated*), sedangkan ekor lainnya mempunyai sudut (membengkok) karena terdapat ikatan rangkap/*unsaturated* (Alberts *et al.*, 2008).



Gambar : 2.8 Fosfolipid (<http://www.madsci.org>)

#### 2.5.4 Kerusakan Sel Endotel

Radikal bebas yang berlebih dapat membahayakan tubuh karena dapat merusak biomakromolekul seperti lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat. Kerusakan biomakromolekul selanjutnya dapat mengakibatkan kerusakan atau kematian sel (Halliwell & Gutteridge 2000).

Radikal bebas dapat menyerang berbagai komponen penting sel, diantaranya adalah protein. Komponen protein yang berfungsi sebagai kanal ion, pompa ion, reseptor enzim, akan teroksidasi pada bagian yang mempunyai gugus sulfhidril (-SH) menjadi ikatan disulfida yang akan menyebabkan ikatan silang (*cross linkage*) antar molekul protein, menyebabkan degradasi /depolimerisasi protein, sifat protein menjadi kaku dan mudah putus, akibatnya protein membran akan kehilangan berbagai fungsinya. Keadaan ini akan menyebabkan kanal ion terbuka, maka diduga kuat  $\text{Ca}^{2+}$  ekstraselular yang mempunyai konsentrasi lebih tinggi dari sitosol akan masuk ke dalam sel. Hal ini menyebabkan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  meningkat (Halliwell and Gutteridge, 2000).

Radikal bebas akan menyerang komponen enzim terutama ATP-ase yang tersusun dari rangkian asam amino yang mengandung gugus sulfhidril (-SH), sehingga ATP-ase menjadi kurang aktif, maka fungsinya sebagai pengendali  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol akan terganggu. Dengan terganggunya peran regulasi  $\text{Ca}^{2+}$  maka akan terjadi peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel. Radikal bebas juga menyerang membran mitokondria dan *endoplasmic reticulum* (ER). Karena  $\text{Ca}^{2+}$  di dalam mitokondria dan ER lebih tinggi, ditambah tidak berfungsinya ATP-ase dan 1,4,5 *Inositol triphosphate* (IP3) dalam pengendalian  $\text{Ca}^{2+}$  di dalam mitokondria dan ER, maka akan terjadi efluks  $\text{Ca}^{2+}$  ke dalam sitosol. Terlepasnya  $\text{Ca}^{2+}$  dari ER mengakibatkan perubahan kanal ion pada membran plasma, maka terjadilah influx  $\text{Ca}^{2+}$  dari ekstraseluler dalam sitosol yang makin meningkatkan  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol (Halliwell and Gutteridge, 2000).

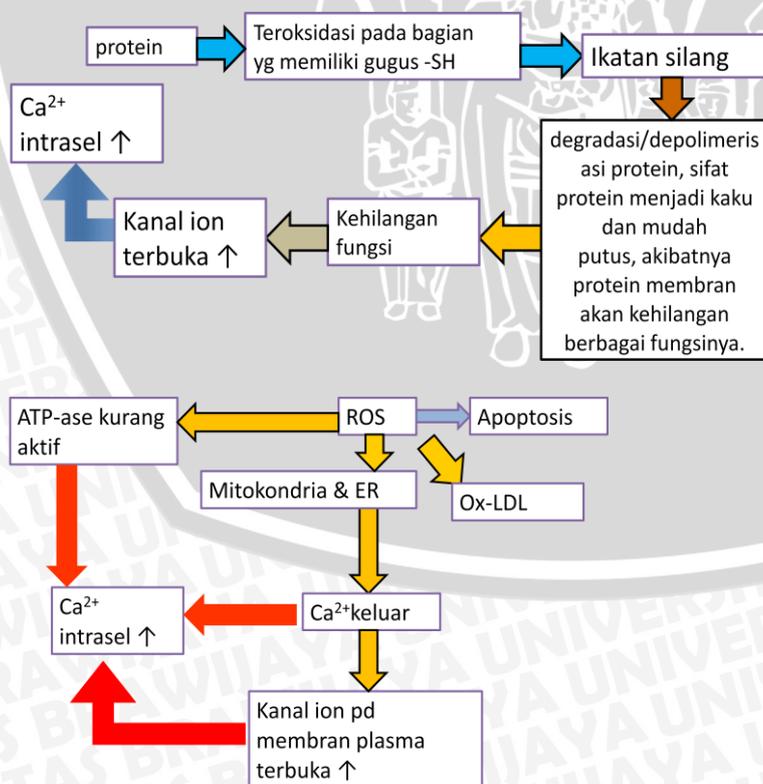
Peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol akan menyebabkan peningkatan aktivitas fosfolipase, protease dan endonuklease. Peningkatan aktivitas protease akan merusak komponen protein, aktivitas fosfolipase akan merusak membran lipid, dan aktivasi endonuklease akan merusak untai DNA (Gutteridge and Halliwell,

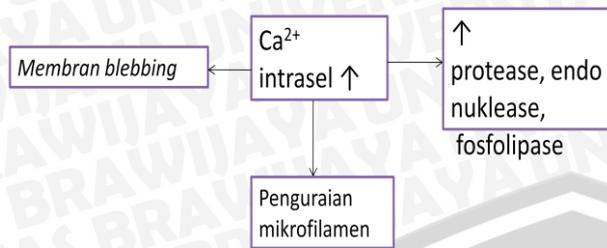
2000). Konsekuensi yang terjadi apabila  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel  $>5\mu\text{M}$  adalah *membran blebbing* yang diakibatkan oleh disrupsi sitoskeleton. Peningkatan ini dapat menyebabkan penguraian mikrofilamen aktin dari  $\alpha$ -actinin, protein yang berperan sebagai penghubung pada hubungan mikrofilamen dengan protein pengikat aktin pada membran plasma,  $\text{Ca}^{2+}$  juga dapat mengaktifkan beberapa protease (*calpain*) yang membelah protein pengikat aktin, menghilangkan hubungan sitoskeleton dengan membran plasma dan mengakibatkan sel untuk mengalami '*belb out*'. Oksidasi grup  $-\text{SH}$  pada protein sitoskeletal oleh ROS/RNS, dan penurunan ATP (yang diperlukan untuk mempertahankan integritas sitoskeletal) juga dapat menyebabkan terjadinya *blebbing* (Gutteridge dan Halliwell, 2000). Jika *blebbing* berjalan secara luas sehingga ruptur *bleb* terjadi tanpa penutupan kembali dengan segera, sel akan kehilangan gradien ionnya dan mengalami kematian (Halliwell an Gutteridge, 2000).

Sitoskeleton, molekul adhesi, sel penghubung antar sel dan protein non membrane, semua komponen ini tersusun dari protein yang mempunyai gugus sulfhidril, merupakan komponen yang terintegrasi, dalam rangka mempertahankan bentuk dan keterikatan dengan sel dan jaringan sekitarnya. Apabila komponen-komponen tersebut teroksidasi oleh radikal bebas maka akan terjadi proses degradasi dan depolimerisasi, berubah sifat menjadi kaku dan mudah putus, filamen aktin, filamen *intermediate* yang diikat oleh protein pengikat akan mengalami disintegrasi, menyebabkan jangkar sitoskeleton menjadi hilang. Molekul adhesi (*integrin, cadherin, vinculin, PCAM, ICAM*) akan mengalami peristiwa yang sama sehingga hubungan antar sel dan perlekatan pada membrana basalis menjadi renta dan sel endotel mengalami perubahan bentuk menjadi lebih bulat (*blebbing*) (Lum dan Reobuck, 2001).

Pelepasan endotel akibat pemaparan asap rokok secara akut akan meningkatkan jumlah sirkulasi endotel atau *endothelial circulating cells* (ECC) dalam darah hingga dua kali lipat (Santoso, 2005). Pada *injury* endotel yang ekstrim, misalnya karena pemaparan asap rokok, sel endotel akan mengalami *disjunction* dan akan mengalami pemisahan sel endotel dengan jaringan penghubung dibawahnya. Akibatnya sel endotel akan terlepas dan ikut masuk ke dalam sirkulasi (Setijowati, 1998).

ROS pada kondisi stres oksidatif dapat menginisiasi proses apoptosis. ROS yang dibentuk oleh mitokondria juga akan bekerja pada mitokondria yang akan menyebabkan rusaknya keseimbangan *mitochondrial membrane potential* sehingga pori-pori membran mitokondria akan terbuka dan memicu pengeluaran *cytochrome C* dan selanjutnya menyebabkan apoptosis (Moustafa *et al.*, 2004). Berikut merupakan ringkasan proses kerusakan sel endotel:





**Gambar 2.6** Bagan Kerusakan Sel Endotel (<http://www.madsci.org>)

## 2.6 Antioksidan

Secara normal, tubuh mempunyai pertahanan yang sistematis untuk mengatasi efek serangan radikal bebas yang disebut antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen, dan radikal bebas lainnya sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, kanker, dan penuaan. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai (Halliwell dan Gutteridge, 2000).

Berdasarkan fungsinya, antioksidan dapat dibagi menjadi 4 tipe (Hariyatmi 2007) :

- a. Tipe pemutus rantai reaksi pembentuk radikal bebas, dengan menyumbangkan atom H, misalnya vitamin E
- b. Tipe pereduksi, dengan mentransfer atom H atau oksigen, atau bersifat “pemulung”, misalnya vitamin C

- c. Tipe pengikat logam, mampu mengikat zat peroksidan, seperti Fe misalnya flavonoid
- d. Antioksidan sekunder, mampu mendekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk stabil, misal SOD, katalase, glutathion peroksidase.

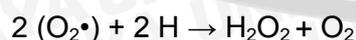
Klasifikasi lain dari antioksidan adalah antioksidan non enzimatik dan antioksidan enzimatik.

### 2.6.1 Antioksidan Enzimatik

Antioksidan enzimatik merupakan antioksidan yang secara normal diproduksi dalam tubuh, yaitu enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan *glutathione peroksidase* (GSH) (Valko *et al.*, 2007)

#### a. Superoksida Dismutase (SOD)

Antioksidan endogen utama pada sel-sel tubuh adalah enzim superoksida dismutase (SOD). Enzim ini bekerja spesifik untuk mengeliminasi radikal bebas anion superoksida (Carroll *et al.*, 2007). Enzim SOD mengkatalis dismutase oksigen menjadi hidrogen peroksida dan mengubahnya menjadi air dan oksigen yang stabil (Gurer & Ercal 2000).

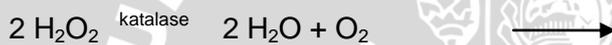


Akumulasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan menyebabkan SOD inaktif karena itu SOD bekerjasama dengan enzim-enzim yang dapat menghancurkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yaitu katalase dan GSH. Enzim SOD pada mamalia terdiri atas tiga bentuk, yaitu

copper, zinc superoxide dismutase atau Cu,Zn-SOD yang berada terutama di sitoplasma, manganese superoxide dismutase atau Mn-SOD yang berada di mitokondria, dan extracelular superoxide dismutase atau ECSOD (Miao *et al.*, 2009).

**b. Katalase**

Katalase mengkatalisis reaksi dismutase lipid peroksida menjadi air dan oksigen. Katalase mempunyai aktivitas reduktif yang bermakna untuk molekul-molekul kecil seperti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan *metil* atau *etil* hidroperoksida.



Katalase tidak bereaksi dengan molekul peroksida yang besar seperti lipid hidroperoksida yang merupakan produk reaksi peroksida lipid. Katalase paling efektif bila H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada konsentrasi yang tinggi. Pada konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan peroksida lainnya, yang rendah, glutathion memainkan peranan penting dalam metabolisme ROS tersebut (Comhair & Erzurum, 2002).

**c. Glutathion Peroksidase**

Glutathion peroksidase (GSH-Px) adalah seleno-enzim yang mengkatalisis reduksi peroksida dengan kehadiran GSH. Kemampuan glutathion peroksida mereduksi senyawa peroksida dapat menurunkan radikal bebas dalam tubuh (Sidihartini, 2003). Glutathion berfungsi sebagai antioksidan melalui berbagai mekanisme. Senyawa tersebut secara kimia dapat bereaksi dengan oksigen singlet, radikal superoksida, dan hidroksil, dan secara langsung dapat berperan sebagai *scavenger* radikal bebas. Glutathion juga menstabilkan struktur membran

dengan cara menghilangkan atau meminimalkan pembentukan asil peroksida dalam reaksi peroksida lipid (Prince *et al.*, 1990).

Reaksi berikut merupakan reaksi GSH mereduksi  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan *glutathione disulfide* (GSSG) ( Krishna and Govindasamy, 2010).



### 2.6.2 Antioksidan Non Enzimatik

Anti oksidan non enzimatik dapat diperoleh dari luar tubuh seperti vitamin A, C, E,  $\beta$ -karoten dan flavonoid (polifenol) . Polifenol dari tanaman berasal dari metabolit sekunder dan merupakan bagian integral dari makanan manusia. Beberapa makanan mengandung polifenol adalah teh hijau, buah-buahan, rumput laut dan lain-lain (Manach *et al.*, 2004).

Flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan karena dapat menangkal (*scavenge*) radikal bebas. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan disebabkan karena adanya struktur ikatan rangkap (*diena*) terkonjugasi. Kemampuan elektron terdelokalisasi dan kestabilan radikal flavonoid dalam membentuk struktur resonansi setelah abstraksi atom hidrogen terhadap radikal bebas (Zhang, 2005).

#### Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)

Vitamin E adalah golongan vitamin yang larut dalam lemak. Bentuk vitamin E merupakan kombinasi dari delapan molekul yang sangat rumit yang disebut 'tocopherol'. Tokoferol dan tokotrienol adalah suatu antioksidan yang sangat efektif, yang dengan mudah menyumbangkan atom hidrogen pada gugus

hidroksil (OH) dari struktur cincin ke radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi tidak reaktif. (Silalahi 2002).

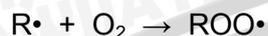
Vitamin ini secara alami memiliki 8 isomer yang dikelompokkan dalam 4 tokoferol ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ ) dan 4 *tokotrienol* ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ ). Bentuk vitamin E ini dibedakan berdasarkan letak berbagai grup metil pada cincin fenil rantai cabang molekul dan ketidakjenuhan rantai cabang.  $\alpha$ -tokoferol merupakan bentuk tokoferol yang paling aktif dan paling banyak digunakan sebagai antioksidan. Vitamin E merupakan vitamin yang larut lemak yang banyak terkandung dalam telur, susu, daging, buah-buahan, kacang-kacangan seperti kecambah dan sayuran seperti selada dan bayam (Herlambang, 2006).

Tokoferol merupakan pertahanan baris pertama terhadap proses peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang terdapat di dalam fosfolipid. Tokoferol memutus berbagai reaksi rantai radikal bebas karena kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil PUFA yang terperoksidasi (Brasier, 2002). Peroksida yang terbentuk pada peroksidasi lipid sebenarnya bisa diubah menjadi alkohol oleh enzim peroksidase lain dan dapat dikeluarkan dari membran oleh enzim fosfolipase sehingga membran menjadi utuh kembali. Tetapi bila kerusakan meluas dan enzim peroksidase tidak mencukupi, kerusakan membran tersebut dapat menimbulkan kematian sel. Berikut merupakan mekanisme antioksidan tokoferol memutus rantai radikal peroksil:

Peroksidasi lemak biasanya dicetuskan oleh sebuah radikal, misalnya radikal  $\text{OH}\cdot$ . Radikal ini akan mengekstraksi sebuah atom H pada PUFA sehingga terbentuk radikal lemak ( $\text{L}\cdot$ ).



Reaksi berantai radikal bebas diperluas oleh penambahan  $O_2$  yang membentuk radikal peroksi lemak ( $LOO\cdot$ ) dan peroksida lemak ( $LOOH$ ) dan rantai radikal bebas berlanjut.



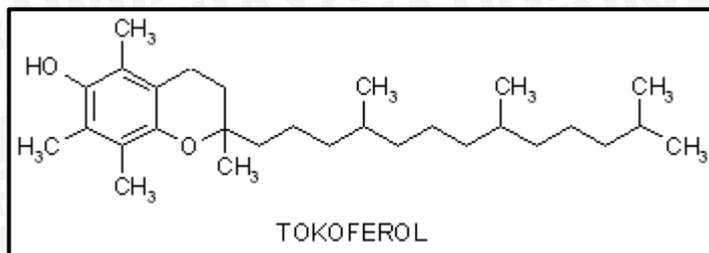
Radikal-radikal peroksil ( $ROO\cdot$ ) dapat bereaksi 1000 kali lebih cepat dengan tokoferol ( $toc-OH$ ) dibandingkan dengan PUFA (Bruton *et al.*, 2008). Tokoferol memberikan atom H pada radikal lemak yang menghasilkan radikal tokoferoksil ( $toc-O\cdot$ ) dan peroksida lemak ( $LOOH$ ) atau radikal tokoferoksil langsung bereaksi dengan radikal peroksil :



Radikal  $toc-O\cdot$  yang terbentuk dapat bereaksi dengan tokoferol untuk menghasilkan kembali tokoferol, atau bereaksi dengan radikal bebas peroksil berikutnya sehingga cincin kromana serta rantai samping dioksidasi menjadi produk bukan radikal bebas. Produk oksidasi ini mengalami konjugasi dengan asam glukoronat melalui gugus 2-hidroksil dan diekskresikan ke dalam getah empedu. Jika bereaksi dengan cara ini tokoferol tidak akan didaur ulang setelah melaksanakan fungsinya, tetapi harus sepenuhnya diganti untuk melanjutkan peran biologiknya di dalam sel.

Vitamin E selain melindungi peroksidasi PUFA, juga melindungi plasma lipoprotein (LDL) terhadap pengaruh oksidasi. Oksidasi LDL menyebabkan uptake LDL yang teroksidasi ( $Ox-LDL$ ) oleh monosit yang akan menimbulkan sel busa, mempromosikan terjadinya apoptosis oleh  $Ox-LDL$  serta menginduksi kerusakan sel endotel. LDL yang mengandung  $\alpha$ -tokoferol yang menghambat

proses oksidasi LDL dan akumulasi *Ox-LDL* akan mengurangi terjadinya *Ox-LDL-Induced apoptosis* pada sel endotel (Herlambang, 2006; Sukandar, 2006).



**Gambar 2.7 Struktur  $\alpha$ -tokoferol** (<http://forum.indowebster.com>)

Penggunaan  $\alpha$ -tokoferol berbagai dosis terbukti mampu mengatasi stres oksidatif pada fungsi reproduktif mencit betina (Al-Enazi, 2007). Efek antioksidan vitamin E pada minyak buah merah yang kaya akan  $\alpha$ -tokoferol telah terbukti dapat mencegah efek negatif radikal bebas akibat pemaparan asap rokok. Hasil yang diperoleh adalah efek hambatan penurunan jumlah sel endotel yang signifikan pada aorta tikus (Karyono, 2006).

Kebutuhan vitamin E menurut U.S RDA yaitu pada pria sebanyak 19 mg/hari; 15 IU, wanita sebanyak 8 mg/hari; 12 IU, masa kehamilan dibutuhkan sebanyak 10 – 12 mg/perhari (Dewoto, 2006; Kamiensky and Keogh, 2006). Banyak ahli mengatakan bahwa suplementasi vitamin E aman dikonsumsi sampai 1000 IU, sementara sebagian besar secara umum menentukan dosis dari suplementasi vitamin E untuk dewasa antara 300 – 800 IU per hari. Banyak peneliti percaya bahwa dosis 100 – 200 IU per hari cukup dan dosis yang lebih dari jumlah tersebut hanya memberikan sedikit efek. Ada yang menyebutkan dosis efektif untuk tubuh secara umum antara 400 – 1200 IU (Shari, 2000). Sedangkan menurut Tome (2010), dosis vitamin E untuk tikus adalah 200 mg/kg/hari.