

**Pengaruh Pemberian Zink dan Probiotik terhadap Kadar
MDA (Malondialdehid) Serum dan Ekspresi iNOS Jaringan
Paru Tikus yang Terpapar Asap Rokok**

*Effect of Zinc and Probiotics on MDA (Malondialdehyde) Serum
Levels and iNOS Expression on Rat Lung Tissue Exposed to
Cigarette Smoke*



**Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

**Ega Lawalata Yolanda
22010120420038**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2022**

TESIS

Pengaruh Pemberian Zink dan Probiotik terhadap Kadar MDA (Malondialdehid) Serum dan Ekspresi iNOS Jaringan Paru Tikus yang Terpapar Asap Rokok

diajukan oleh :

Ega Lawalata Yolanda
22010120420038

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada 08 September 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. dr. Udadi Sadhana, MKes Sp.PA(K)
NIP. 196308211991031001

Pembimbing II



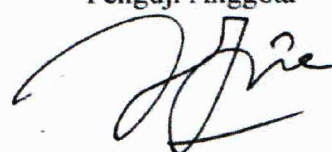
Dr. dr. Neni Susilaningsih, M.Si
NIP. 196308211991031001

Penguji Ketua



dr. Muflihatul Muniroh, M.Si.Med, Ph.D
NIP. 198302182009122004

Penguji Anggota



dr. Endang Mahatj, M.Sc., Ph.D
NIP. 198310032008122003

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro



Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M.Kes, SpB.Subsp.Onk.(K)
NIP. 19750124200811006

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama Mahasiswa : dr. Ega Lawalata Yolanda

NIM : 22010120420038

Program Studi : Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas
Diponegoro

Judul Tesis : Pengaruh Pemberian Zink dan Probiotik terhadap Kadar
MDA (Malondialdehid) Serum dan Ekspresi iNOS
Jaringan Paru Tikus yang Terpapar Asap Rokok

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur – unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana dimaksud dalam PERMENDIKNAS No.17 tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 8 September 2022



dr. Ega Lawalata Yolanda
22010120420038

Riwayat Hidup

A. Identitas

Nama : dr. Ega Lawalata Yolanda
Tempat/ tanggal lahir : Semarang/ 05 Juli 1996
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Islam Hidayatullah : Lulus tahun 2008
2. SMP N 21 Semarang : Lulus tahun 2011
3. SMA N 3 Semarang : Lulus tahun 2014
4. Pendidikan Dokter : Lulus tahun 2018
UNDIP Semarang
5. Profesi Dokter : Lulus tahun 2020
UNDIP Semarang
6. Magister Ilmu Biomedik : Lulus tahun 2022
UNDIP Semarang

C. Riwayat Keluarga

Nama Orang tua
Ayah : Sutarto
Ibu : Darwati

Kata Pengantar

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan karuniaNya, laporan akhir hasil penelitian Tesis ini dapat selesai. Penulisan Tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi sebagian persyaratan untuk mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro yang telah member kesempatan kepada kami untuk menimba ilmu di Universitas Diponegoro.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Fakultas Kedokteran UNDIP yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada kami sehingga kami dapat menyelesaikan tugas ini dengan baik dan lancar.
3. Dr. dr. Udadi Sadhana, M.Kes Sp.PA(K) dan Dr. dr. Neni Susilaningsih, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing kami dalam penyusunan Tesis.
4. dr. Muflihatul Muniroh, M.Si.Med, Ph.D dan dr. Endang Mahati, M.Sc., Ph.D selaku Penguji Ketua dan Penguji Anggota yang telah memberikan masukan dan saran yang membangun dalam penyusunan Tesis
5. Orang tua beserta keluarga kami yang senantiasa memberikan dukungan moral maupun material.
6. Para sahabat yang selalu memberi dukungan dalam menyelesaikan Tesis ini.
7. Serta pihak lain yang tidak mungkin kami sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.

Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang membantu dan senantiasa memberikan berkat dan rahmat yang berlimpah bagi kita semua.

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Orisinalitas Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 Pengaruh Asap Rokok pada Imunitas	11
2.2 Oksidan dan Antioksidan	14
2.3 Zink	18
2.4 Probiotik.....	22
2.5 Malondealdehid.....	23

2.6 Ekspresi INOS.....	26
2.7 Kerangka Teori.....	29
2.8 Kerangka Konsep	30
2.9 Hipotesis.....	30
2.9.1 Hipotesis Mayor	30
2.9.2 Hipotesis Minor.....	30
BAB III METODELOGI PENELITIAN	32
3.1 Ruang Lingkup Penelitian.....	32
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	32
3.3 Jenis dan Rencana Penelitian	32
3.4 Populasi Penelitian	34
3.5 Sampel Penelitian.....	34
3.5.1 Jumlah Sampel	34
3.5.2 Cara Pengambilan Sampel	34
3.6 Variabel Penelitian	35
3.6.1 Variabel Bebas	35
3.6.2 Variabel Tergantung.....	36
3.7 Definisi Operasional.....	36
3.8 Alat dan Bahan Penelitian.....	37
3.8.1 Alat Penelitian.....	37
3.8.2 Bahan dan Reagen Penelitian.....	38
3.9 Prosedur Penelitian.....	39
3.10 Alur Penelitian	40
3.11 Prosedur Kerja.....	40

3.11.1 Cara pemeliharaan.....	40
3.11.2 Cara memegang tikus, pemberian Zink dan Probiotik.....	40
3.11.3 Cara pemaparan asap rokok dan terminasi hewan coba.....	41
3.11.4 Prosedur Pengukuran Kadar MDA Serum.....	41
3.11.5 Prosedur Pengukuran Ekspresi INOS	45
3.12 Analisis Statistik	47
3.13 Etika Penelitian	48
BAB IV HASIL PENELITIAN	49
4.1 Kadar MDA Serum	49
4.2 Ekspresi INOS Jaringan Paru.....	50
BAB V PEMBAHASAN	54
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	60
6.1 Simpulan	60
6.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian.....	7
Tabel 2. ROS yang dihasilkan dari sumber eksogen.....	17
Tabel 3. Definisi Operasional.....	36
Tabel 4. Deskriptif dan hasil uji normalitas data kadar MDA Serum.....	49
Tabel 5. Hasil uji beda MDA KS dan K (-).....	50
Tabel 6. Uji perbedaan MDA	50
Tabel 7. Deskriptif dan hasil uji normalitas data INOS (%)	51
Tabel 8. Hasil uji beda INOS (%) K S dan K (-).....	51
Tabel 9. Uji perbedaan INOS (%) dilakukan uji parametrik One Way ANOVA	52
Tabel 10. Uji Post Hoc LSD untuk mengetahui perbedaan iNOS (%)	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Efek merokok pada perkembangan dan fungsi sel imun bawaan dan adaptif.	11
Gambar 2. Komponen asap rokok.....	12
Gambar 3. Pembentukan MDA.....	25
Gambar 4. NO disintesis dari L-arginin dan oksigen molekuler oleh kelompok enzim NOS.....	28
Gambar 5. Diagram Kerangka Teori.....	29
Gambar 6. Diagram Kerangka Konsep	30
Gambar 7. Alur Penelitian.....	40
Gambar 8. Pengenceran standar reagen MDA	43
Gambar 9. Grafik Box-Plot Produksi INOS jaringan paru	50
Gambar 10. Grafik Box-Plot Produksi INOS jaringan paru	51
Gambar 11. Hasil persentase INOS pada Mikroskop	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pemeriksaan Malondealdehid	66
Lampiran 2. Proses selama Pemeriksaan Malondealdehid di Laboratorium GAKI UNDIP	67
Lampiran 3. Proses pemeliharaan dan pengambilan spesimen pada hewan coba di Laboratorium Hewan Coba UNDIP	68
Lampiran 4. Hasil preparat Ekspresi INOS.....	69
Lampiran 5. Hasil Analisa Statistik.....	70
Lampiran 6. Surat Keterangan Selesai Magang di Laboratorium Hewan Coba UNDIP	75
Lampiran 7. Surat Keterangan Selesai Magang di Laboratorium GAKI UNDIP	76
Lampiran 8. Ethical Clearance diterbitkan oleh KEPK UNDIP dan RSUP Kariadi	77

ABSTRAK

Pendahuluan: Polusi udara menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang signifikan. Salah satu bentuk polusi udara yang paling umum adalah asap rokok (AR). Inhalasi AR menyebabkan stres oksidatif, respons inflamasi, menghasilkan nitrogen oksida dan radikal bebas toksik. Zink dan probiotik dianggap sebagai antioksidan untuk melawan radikal bebas.

Tujuan: Mengetahui mekanisme aksi suplementasi seng dan probiotik terhadap komponen kadar serum malondialdehid (MDA) dan ekspresi *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) yang mendasari efek inflamasi yang diinduksi AR pada tikus Wistar.

Material dan Metode: Penelitian Eksperimental *post-test only-control group*. 30 ekor tikus Wistar yang memenuhi kriteria inklusi, diacak dan dibagi dalam lima kelompok: Kelompok KS: makanan saja, K(-): Asap, P1: Asap+Zink, P2: Asap+Probiotik dan P3: Asap+Zink+Probiotik. Dua batang rokok diberikan dua kali sedangkan suplementasi sekali sehari selama 7 hari, kemudian diambil sampel darah dan jaringan paru untuk uji MDA serum dan ekspresi INOS jaringan paru dengan imunohistokimia.

Hasil: Rerata MDA tertinggi pada kelompok P1 ($191,20 \pm 98,57$), rerata terendah adalah K(-) ($101,27 \pm 42,07$). Tidak ada perbedaan kadar MDA antara K(-) dan kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Ekspresi INOS menunjukkan rerata tertinggi pada K(-) (37.50 ± 11.40), rerata terendah pada P3 (17.50 ± 5.24). K(-) terhadap P1, P2 dan P3 berbeda nyata ($p < 0,05$), sedangkan tidak ada perbedaan signifikan antara masing-masing kelompok perlakuan.

Pembahasan: Suplementasi zink atau probiotik saja maupun suplementasi ganda tidak berpengaruh terhadap perubahan kadar MDA pada tikus yang dipapar AR. Hal ini dapat terjadi karena periode pengobatan yang singkat, penyerapan zink terhambat karena cadmium rokok. Suplementasi ganda zink dan probiotik memiliki ekspresi INOS terendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan tunggal lainnya, menunjukkan Zink dan Probiotik memiliki efek mengurangi produksi INOS terutama di jaringan paru-paru dan saluran napas. Pemberian zink dan probiotik secara bersamaan dapat menjadi pilihan terapi untuk pasien PPOK.

Kata Kunci: Asap Rokok, Zink, Probiotik, Inflamasi, Kadar MDA serum, Ekspresi INOS

ABSTRACT

Introduction: Air pollution causes significant morbidity and mortality. One of the most common forms of air pollution is cigarette smoke (CS). Inhalation of CS causes oxidative stress, inflammatory response, generate nitrogen oxides and toxic free radicals. Zinc and probiotic are thought to be antioxidants to fight against free radicals.

Aim: Investigate mechanism of action of zinc and probiotic supplementations on the components of malondialdehyde (MDA) serum level and Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) expression that underlie the effects of CS induced inflammation of Wistar rats.

Material and Method: Experimental research posttest only-control group. 30 Wistar rats which met inclusion criteria, randomized into five groups: Group KS: food only, K(-): Smoke, P1: Smoke+Zinc, P2: Smoke+Probiotics and P3: Smoke+zinc+probiotic. Two smoking cigarettes were given twice while supplementation once a day for 7 days, then rats were sacrificed. Blood sample and lung tissue were taken for serum MDA test and immunohistochemistry INOS expression of lung tissue.

Result: Highest mean of MDA was P1 (191.20 ± 98.57), lowest mean was K(-) (101.27 ± 42.07). No difference of MDA level between K(-) and treatment groups ($p > 0.05$). INOS expression showed highest mean in K(-) (37.50 ± 11.40), lowest mean in P3 (17.50 ± 5.24). K(-) against P1, P2 and P3 had significant difference ($p < 0.05$), while no significant difference shown between the group treatments.

Discussion: Supplementation only Zinc or Probiotics alone as well as double supplementation had no effect on changes in MDA levels in rats exposed to CS. It may due to brief duration period of treatment, inhibited zinc absorption because of cadmium. Zinc and Probiotic double supplementation had the lowest INOS expression compared to the other solo treatment groups, indicating zinc and probiotic may have the effect of reducing INOS production especially in lung tissue and airway. Study reported inhibition of iNOS could prevent or improve the manifestations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in rats. This suggests that concurrent administration of zinc and probiotics can be a therapeutic option for COPD patients.

Keywords: Cigarette Smoke, Zinc, Probiotic, Inflammation, MDA serum level, INOS expression