

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Polusi udara dikaitkan dengan peradangan, stres oksidatif dan disfungsi otonom secara bersamaan pada manusia muda yang sehat.¹ Polusi udara berdampak pada morbiditas dan mortalitas yang signifikan pada pasien dengan penyakit inflamasi saluran napas meningkatkan sensitivitas alergi atopik, dan meningkatkan kerentanan terhadap infeksi.² Salah satu bentuk polusi udara yang sering dijumpai antara lain asap rokok.

Asap rokok dikaitkan dengan berbagai penyakit dan merupakan tantangan berat bagi sistem kesehatan di seluruh dunia. Asap rokok berdampak pada imunitas bawaan maupun imunitas adaptif dan memainkan peran ganda dalam mengatur imunitas melalui eksaserbasi respon imun patogen atau pelemahan imunitas defensif.³

Konsumsi tembakau merupakan faktor risiko yang dapat dicegah untuk penyakit tidak menular seperti penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), kanker dan penyakit kardiovaskular. Sekitar enam juta orang meninggal setiap tahun akibat paparan jangka panjang pada perokok aktif dan pasif.⁴

Analisis oleh ahli kesehatan Eropa menyatakan di negara-negara maju, merokok merupakan penyebab 24% kematian dari semua kematian pada pria dan 7% dari semua kematian wanita. Angka-angka ini meningkat menjadi lebih dari 40% pada pria di negara di Eropa tengah dan timur dan menjadi 17% pada wanita di Amerika Serikat. Rerata penurunan rentang hidup perokok sekitar delapan tahun.⁵ Prevalensi merokok menurut data Riskesdas (2018), terjadi peningkatan

prevalensi merokok di kalangan remaja usia 10 hingga 18 tahun dari tahun 2013 (7,20%) hingga tahun 2018 (9,10%). Merokok masih menjadi prevalensi yang cukup tinggi di Indonesia dan dapat terus meningkat. Di Indonesia, lebih dari 240.000 orang meninggal setiap tahun akibat merokok, atau dengan kata lain 660 kematian setiap hari. Jalur molekuler yang dipengaruhi oleh merokok melibatkan NFkB, MAP kinase dan modifikasi histon.^{6,7}

Zink dikenal sebagai *trace metal* esensial yang dibutuhkan untuk kesehatan manusia, kekurangan Zink berkaitan dengan defek pada sistem saraf dan sistem imun. Zink berfungsi sebagai antioksidan melalui aksi katalitik tembaga/ zink superoksida dismutase, stabilisasi struktur membran, perlindungan gugus sulfhidril protein, dan peningkatan regulasi ekspresi metallothionein dengan mengikat logam, menunjukkan fungsi antioksidan.⁸ Selain itu, zink menekan respon anti-inflamasi dengan mengaugmentasi stres oksidatif. Mekanisme kerja zink tidak langsung terlihat karena memiliki banyak peran dalam sistem biologis. Studi menunjukkan bahwa kekurangan zink ataupun kelebihan zink menyebabkan stres oksidatif seluler.⁹

Penggunaan probiotik menunjukkan efek menguntungkan pada banyak penyakit. Mekanisme utama aksi probiotik dengan regulasi respon imun inang. Efek menguntungkan dari probiotik pada sistem pertahanan mukosa usus termasuk meningkatkan sistem pertahanan terhadap bakteri patogen, homeostasis epitel usus dengan meningkatkan kelangsungan hidup sel epitel usus dan merangsang respons protektif dari sel epitel usus. Probiotik meningkatkan kekebalan bawaan dan memodulasi inflamasi yang diinduksi patogen melalui jalur *toll-like receptor*.¹⁰ Studi terbaru efek probiotik pada

sampel 72 perokok pria yang menerima probiotik harian dan plasebo selama tiga minggu, menunjukkan bahwa pria yang menerima probiotik mengalami peningkatan aktivitas sel NK 17-26%, dibandingkan dengan 8,4-10,5% pada kelompok plasebo.¹¹ Namun, mekanisme yang tepat mempengaruhi efek probiotik pada *host* terutama pada sistem respirasi sebagian besar masih belum jelas.

Merokok dan asap rokok dapat menyebabkan stress oksidatif yang meningkatkan produk hasil peroksidasi lipid dan menyebabkan gangguan fungsi organ. Peningkatan peroksidasi lipid diukur dengan berbagai pengukuran penanda (marker) peroksidasi lipid pada darah, malondialdehid merupakan salah satu penanda (marker) dan penanda klinis peroksidasi lipid. MDA dapat menandakan stres oksidatif serta peroksidasi lipid *in vivo* yang paling baik serta memiliki komponen yang stabil.¹²

Penelitian mengenai ekspresi iNOS secara *in vitro* oleh Hoyt, dkk menyatakan pengurangan produksi NO oleh karena merokok berkontribusi pada peningkatan kejadian infeksi saluran pernapasan bawah.¹³ Asap rokok menurunkan ekspresi iNOS secara *in vitro* dengan mengurangi transkripsi mRNA iNOS. Pasien asma yang merokok, memiliki penurunan kadar NO yang dihembuskan.¹⁴ Sedangkan pada penelitian Hotchkiss dkk, menyatakan protein iNOS akan diproduksi oleh makrofag ketika teraktivasi oleh sitokin dan toksin. iNOS tidak pernah ditemukan secara fisiologis pada sel yang normal, iNOS tetap aktif selama 24-36 jam serta dapat mensintesis NO 100-1000 kali lebih banyak daripada nNOS dan eNOS

Makrofag menghasilkan protein iNOS saat mendapat sinyal sitokin dan toksin. Secara fisiologis, iNOS tidak pernah ditemukan pada sel sehat dan normal, iNOS akan aktif hingga 24-36 jam dan dapat membentuk NO lebih banyak dari daripada nNOS dan eNOS 100-1000 kali lipat.¹⁵

Penelitian ini bertujuan meninjau secara sistematis dan objektif mekanisme kerja zink dan probiotik baik sebagai antioksidan pada komponen imunitas MDA dan ekspresi iNOS molekuler yang mendasari efek asap rokok dan merokok pada sistem imunitas tikus wistar yang diberikan perlakuan paparan asap rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian zink dan probiotik terhadap kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru tikus yang terpapar asap rokok?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian zink dan probiotik terhadap kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru tikus yang terpapar asap rokok.

Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini, yaitu:

1. Membuktikan adanya perbedaan kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru pada tikus kontrol dengan tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari tanpa perlakuan.

2. Membuktikan adanya perbedaan kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru pada tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari tanpa perlakuan dengan tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari dan diberikan perlakuan pemberian zink oral 3,5 mg/kgBB.
3. Membuktikan adanya perbedaan kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru pada tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari dengan tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari dan diberikan perlakuan pemberian probiotik oral $2,5 \times 10^9$ CFU/g.
4. Membuktikan adanya perbedaan kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru pada tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari tanpa perlakuan dengan tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari dengan perlakuan pemberian zink oral 3,5 mg/kgBB dan probiotik oral $2,5 \times 10^9$ CFU/g.
5. Membuktikan adanya perbedaan kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru pada tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari hanya pemberian zink oral 3,5 mg/kgBB dengan tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari dan diberikan perlakuan pemberian zink oral 3,5 mg/kgBB dan probiotik oral $2,5 \times 10^9$ CFU/g.
6. Membuktikan adanya perbedaan kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru pada tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari hanya pemberian probiotik oral $2,5 \times 10^9$ CFU/g dengan tikus yang terpapar asap rokok 2 batang sehari dan diberikan perlakuan

pemberian zink oral 3,5 mg/kgBB dan probiotik oral $2,5 \times 10^9$ CFU/g.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan

1. Membuktikan pengaruh zink dan probiotik terhadap kadar MDA serum dan ekspresi iNOS pada inflamasi yang disebabkan oleh paparan asap rokok.
2. Menjadi referensi dan dasar penelitian, melengkapi pengetahuan sebelumnya, dan diperoleh pengetahuan yang lebih lengkap dan benar tentang mekanisme zink dan probiotik untuk penelitian selanjutnya.

Manfaat untuk Masyarakat

1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh antiinflamasi yang terkandung di dalam zink dan probiotik dalam menurunkan mediator pro inflamasi.
2. Menjadikan zink dan probiotik sebagai terapi komplementer.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang pernah dilakukan dengan adanya perbedaan pada variabel tergantung, belum terdapat penelitian yang menilai pengaruh zink dan probiotik secara bersamaan terhadap paparan asap rokok. Perbedaan dari penilaian parameter yang diukur adalah kadar MDA serum dan ekspresi iNOS jaringan paru tikus yang terpapar asap rokok.

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian

No.	Peneliti dan Judul Penelitian	Metodologi Penelitian	Hasil
1.	Pengaruh Suplementasi Zink Terhadap Jumlah Eosinofil Pada Jaringan Paru Penderita Alergi Studi Eksperimental pada Mencit BALB/c dengan Sensitisasi Ovalbumin. Cahiadewi A, dkk. 2016. ¹⁶	<i>Experimental Post Test Only Control Group Design.</i> Sampel: 18 mencit BALB/c betina yang disensitisasi OVA. Variabel Bebas: suplementasi zink dosis 5 mg/kgBB (P). Variabel terikat: jumlah eosinofil pada gambaran histopatologi paru.	Suplementasi zink menurunkan jumlah eosinofil pada paru mencit BALB/c setelah disensitisasi OVA.
2.	<i>Zinc Deficiency During Pregnancy Leads to Altered Microbiome and Elevated Inflammatory Markers in Mice.</i> Sauer A, dkk. 2019. ¹⁷	Menilai kekurangan zink yang mengubah interaksi <i>gut-brain</i> pada tikus hamil dengan memicu perubahan mikrobioma. Tikus hamil diberi makan diet yang berbeda yang cukup zink, kurang zink, cukup zink tapi tinggi antagonis penyerapan zink selama 8 minggu.	Tikus hamil yang kekurangan zink akut dan tikus hamil dengan diet tinggi antagonis penyerapan zink memiliki perubahan komposisi mikrobiota gastro-intestinal (GI). Di dalam otak, ditemukan tanda-tanda peradangan saraf.
3.	<i>Daily intake of Lactobacillus casei Shirota increases natural killer cell activity in smokers.</i> Raele M, dkk. 2012. ¹¹	<i>The double-blind, placebo-controlled, randomised study.</i> Menilai efek asupan Lactobacillus casei Shirota (LcS) pada aktivitas sitotoksik sel NK pada perokok pria. 72 perokok pria Italia yang sehat	Aktivitas sel NK meningkatkan signifikan pada kelompok yang diberikan bubuk probiotik.

		secara acak, dibagi 2 kelompok dengan pemberian bubuk LcS dan plasebo, selama 3 minggu asupan, sel mononuklear darah perifer diisolasi dan aktivitas NK dan jumlah sel CD16 ⁺ dinilai.	
4.	<i>Probiotic Administration Increases Mandibular Bone Mineral Density on Rats Exposed to Cigarette Smoke Inhalation.</i> Levi Y, dkk. 2019 ¹⁸	<i>Experimental Post Test Only Control Group Design.</i> 40 tikus dibagi ke dalam kelompok (n = 10): kelompok C (kontrol), kelompok PROB (kontrol+probiotik); kelompok CSI dan kelompok CSI+PROB. Kelompok PROB dan CSI+PROB menerima 2g probiotik selama 6 bulan. Kelompok CSI dan CSI+PROB terpapar CSI selama 60 menit setiap hari. Setelah enam bulan semua hewan di-eutanasia dan hemi-mandibula dikumpulkan dan diproses untuk analisis tomografi mikrokomputer.	Pemberian probiotik meningkatkan <i>Bone Marrow Density</i> , sehingga memberikan perlindungan pada struktur tulang mandibula pada tikus yang terpapar asap rokok.
5.	<i>Oral feeding with probiotic Lactobacillus rhamnosus attenuates cigarette smoke-induced COPD in C57Bl/6 mice: Relevance to inflammatory markers in human bronchial epithelial cells.</i> Carvalho M, dkk. 2020. ¹⁹	<i>Experimental Post Test Only Control Group Design.</i> Menggunakan mencit jantan umur 3 bulan. Mencit diinduksi PPOK dengan menghirup asap dari 14 batang rokok selama 60 hari, 7 hari/minggu, selama 30 menit dilakukan selama 8 minggu. Kemudian evaluasi parameter inflamasi pada paru mencit.	Pemberian probiotik menurunkan ekspresi NF-κB dan STAT3, dan meningkatkan ekspresi SOCS3. Probiotik memodulasi keseimbangan antara sitokin pro dan anti-inflamasi dalam sel epitel bronkial manusia pada paparan asap rokok.

6. <i>Lactobacillus acidophilus</i> induces virus immune defense genes in murine dendritic cells by a Toll-like receptor-2-dependent mechanism. Weiss G, dkk. 2021 ²⁰	<i>Eksperimental Post Test Only Control Group Design.</i> Kultur strain bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> dan <i>Bifidobacterium bifidu</i> . <i>Sel dendritik turunan dari susmum tulang murine di stimulasi dengan bakteri yang telah dikultur. Ekstraksi RNA sel dendritik kemudian kuantifikasi sitokin dengan uji immunosorben terkait-enzim.</i>	Lactobacillus acidophilus menginduksi regulasi IFN- β dan TLR-3 dalam sel dendritik murine.
7. <i>Zinc supplementation alters airway inflammation and airway hyperresponsiveness to a common allergen.</i> Carrie I, dkk. 2011. ²¹	Tikus disuntik dengan zink glukonase sebelum paparan alergen feses kecoa Jerman dan dinilai inflamasi saluran napas. Pembentukan inflamasi saluran napas diukur dengan hiperresponsif jalan napas, kadar IgE serum, eosinofilia dan produksi sitokin Th2.	Suplementasi zink mengubah aktivitas NF-kB melalui perubahan aktivitas A20. Suplementasi zink untuk penderita asma dapat mengubah reaktivitas saluran napas dan kadar IgE serum, menunjukkan suplementasi zink sebagai pengobatan potensial untuk penderita asma.
8. <i>Effect of Probiotic Supplementation on Liver Function and Lipid Status in Rats.</i> Skrypnik K, dkk. 2018. ²²	30 tikus Wistar dibagi secara acak ke dalam kelompok kontrol (KK), kelompok probiotik dosis harian $2,5 \times 10^9$ CFU (PA) dan kelompok probiotik dalam dosis harian 1×10^{10} CFU (PB) selama 6 minggu. Setelah 6 minggu massa tubuh, massa hati, konsentrasi serum TCH, LDL, high-density	Suplementasi selama 6 minggu dengan campuran probiotik multispecies memberikan efek menguntungkan pada fungsi hati, profil lipid, dan gangguan

		lipoprotein (HDL), TG, ALT dan aspartat transaminase (AST).	kardiovaskular pada model tikus.
9.	<i>Cigarette Smoke Decreases Inducible Nitric Oxide Synthase in Lung Epithelial Cells.</i> Hoyt J, dkk. 2009. ¹³	<i>Experimental study.</i> Sampel epitel paru tikus dan paru manusia, kultur sel epitel paru primer manusia diinduksi untuk menghasilkan NO oleh sitokin. Produksi NO dievaluasi mengukur nitrit, produk akhir stabil NO, dalam cairan supernatan kultur sel.	Ekstrak asap rokok menyebabkan penurunan konsentrasi nitrit yang diinduksi sitokin dalam cairan supernatan kultur dari semua 3 jenis sel. Imunohistokimia menunjukkan penurunan protein NO synthase (iNOS) yang diinduksi sitokin. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak asap rokok menurunkan ekspresi iNOS dan produksi NO dari sel epitel paru.
10.	<i>Probiotic Bifidobacterium lactis V9 attenuates hepatic steatosis and inflammation in rats with non-alcoholic fatty liver disease.</i> Yan Y, dkk. 2020. ²³	<i>Eksperimental study.</i> <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis V9 (V9)</i> adalah strain baru dengan sifat probiotik yang menguntungkan. Studi menilai efek dan mekanisme V9 pada steatosis hati dan respons inflamasi pada tikus yang diinduksi oleh diet tinggi lemak menjadi NAFLD.	<i>Bifidobacterium lactis V</i> memiliki efek anti-inflamasi dengan menghambat ekspresi hati TLR4, TLR9, NLRP3, dan ASC mRNA dan memperbaiki NAFLD dengan mengatur sintesis lipid de novo.