



**PERUBAHAN KADAR PEROKSIDA OTAK TIKUS
MODEL STRES SETELAH PEMBERIAN IKAN
SELUANG (*Rasbora sp.*)**

Skripsi
Diajukan guna memenuhi
Sebagian syarat memperoleh derajat Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Lambung Mangkurat

Oleh
Peni
2110911220023

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN PROGRAM SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
BANJARMASIN**

Desember 2024

PENGESAHAN SKRIPSI

**PERUBAHAN KADAR PEROKSIDA OTAK TIKUS MODEL STRES
SETELAH PEMBERIAN IKAN SELUANG (*Rasbora* sp.)**

Peni, NIM: 2110911220023

Telah dipertahankan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**
Program Studi Kedokteran Program Sarjana
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Lambung Mangkurat
Pada Hari Rabu, Tanggal 11 Desember 2024

Pembimbing I

Nama: Dr. dr. Didik Dwi Sanyoto, M.Kes, M.Med.Ed.
NIP : 197203071997021002

Pembimbing II

Nama: Prof. Dr. dr. Triawanti, M.Kes.
NIP : 197109121997022001

Penguji I

Nama: dr. Sherly Limantara, Sp.KJ
NIP : 198111192006042011

Penguji II

Nama: Dr. Isnaini, S.Si., M.Si, Apt
NIP : 197301311999032001

Banjarmasin, 11 Desember 2024

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Kedokteran Program Sarjana

Dr. dr. Didik Dwi Sanyoto, M.Kes.,M.Med.Ed.
NIP 197203071997021002

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Banjarmasin, 17 Juli 2024



Peni

ABSTRAK

PERUBAHAN KADAR PEROKSIDA OTAK TIKUS MODEL STRES SETELAH PEMBERIAN IKAN SELUANG (*Rasbora sp.*)

Peni

Stres adalah usaha penyesuaian diri untuk mengembalikan keseimbangan badan dan jiwa yang terganggu. Stres dapat meningkatkan proses inflamasi dan stres oksidatif yang diperantarai oleh peningkatan oksidan seperti hidrogen peroksida. Peningkatan ini harus diimbangi dengan kecukupan antioksidan untuk mencegah stres oksidatif. Ikan seluang (*Rasbora sp.*) adalah sumber makanan kaya nutrisi yang dapat berperan sebagai antioksidan eksogen. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian pakan ikan seluang terhadap kadar hidrogen peroksida pada hewan coba yang mengalami stres. Metode yang digunakan adalah *true experimental design* dengan *post-test with control group design* selama 28 hari. Penelitian ini melibatkan tiga kelompok hewan coba, yaitu kontrol negatif (K1) yang tidak diberi perlakuan dengan pakan standar, perlakuan 1 (P1) yang diberi perlakuan dengan pakan standar, dan kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi perlakuan dengan pakan seluang. Hasil penelitian ditinjau dari nilai absorbansi pada spektrofotometer menggunakan sampel otak hewan coba yang telah dihomogenkan. Didapatkan rata-rata hasil kadar Hidrogen Peroksida K1, P1, dan P2 berturut-turut adalah 19,353 μM , 17,653 μM , 12,425 μM . Dari hasil tersebut, didapatkan perbedaan bermakna secara statistik antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0,05$). Simpulan pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian pakan ikan seluang terhadap kadar hidrogen peroksida pada hewan coba yang mengalami stres

Kata-kata kunci: Stres, hidrogen peroksida, ikan seluang

ABSTRACT

CHANGES OF BRAIN PEROXIDE LEVELS IN STRESS MODEL RATS AFTER SELUANG FISH (*Rasbora sp.*) FEEDING

Peni

*Stress is the effort to adjust oneself to restore the balance of body and mind. Stress can increase inflammation and oxidative stress by the rise of oxidants such as hydrogen peroxide. This increase must be balanced with adequate antioxidants to prevent oxidative stress. The seluang fish (*Rasbora sp.*) is a nutrient-rich food source that can act as an exogenous antioxidant. This study aims to analyze the effect of seluang fish on hydrogen peroxide levels in stressed animals. The method used is a true experimental with a post-test control group design over 28 days. This research involved three groups: negative control group (K1) that received no intervention with standard diet, positive control group (P1) that received stress exposure with standard diet, and experimental group (P2) that received stress exposure with seluang diet. The results were evaluated based on the absorbance values measured by a spectrophotometer using homogenized brain samples. Hydrogen peroxide levels for K1, P1, and P2 were 19.353 μM , 17.653 μM , and 12.425 μM , respectively. This results showed a significant difference between the control and experimental groups ($p < 0.05$). The conclusion of this study is that there is an effect of seluang fish on hydrogen peroxide levels in stressed animals.*

Keywords: *Stress, hydrogen peroxide, seluang fish*

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Perubahan Kadar Peroksida Otak Tikus Model Stres Setelah Pemberian Ikan Seluang (Rasbora sp.)**” tepat pada waktunya.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian syarat guna memperoleh derajat sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Prof. Dr. dr. Syamsul Arifin, M.Pd, FISPH, FISCAM yang telah memberi kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.
2. Koordinator Program Studi Kedokteran Program Sarjana periode 2024-2028 Dr. dr. Didik Dwi Sanyoto, M.Kes, M.Med.Ed serta Koordinator Program Studi Kedokteran Program Sarjana periode 2020-2024 Prof. Dr. dr. Triawanti, M.Kes yang telah memberi kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian.
3. Kedua dosen pembimbing Dr. dr. Didik Dwi Sanyoto, M.Kes, M.Med.Ed. dan Prof. Dr. dr. Triawanti, M.Kes yang telah berkenan memberikan saran dan arahan dalam penyelesaian skripsi ini.

4. Kedua dosen penguji dr. Sherly Limantara, Sp.KJ dan Dr. Isnaini, S.Si., M.Si, Apt yang telah memberi kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi semakin baik.
5. Kepala dan seluruh pihak di Laboratorium Biokimia FKIK ULM Banjarbaru yang terlibat membantu dalam proses pengambilan data penelitian ini.
6. Kedua orang tua penulis, ayahanda Salahuddin dan ibunda Mansi, dengan segala dukungan finansial, spiritual, dan emosional yang membawa penulis sampai pada titik ini.
7. Semua saudara dan keluarga penulis yang tidak lelah mendukung, mendoakan, dan membantu.
8. Sahabat sekaligus keluarga penulis yaitu Mama Pasti Bangga, Atlas anatomi 2023, dan PharmaCrew 2024 yang telah menjadi rekan dalam perjuangan.
9. Rekan satu tim penelitian skripsi yaitu Annya Gracia Sugiono dan Batsinatul Aura Hadiyan atas kerjasama dan bantuannya dalam penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi penulis berharap penelitian ini bermanfaat bagi dunia ilmu pengetahuan.

Banjarmasin, Desember 2024

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Keaslian Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Stres.....	7
B. Hidrogen Peroksida.....	8
C. Hubungan Stres dan Hidrogen Peroksida.....	16

D. Perubahan Struktural dan Fungsional Otak Akibat Stres Oksidatif.....	17
E. Tikus Model Stres.....	20
F. Ikan Seluang (<i>Rasbora sp.</i>)	25
G. Perbaikan Gangguan Akibat Stres oleh Ikan Seluang.....	28
BAB III LANDASAN TEORI.....	30
A. Landasan Teori.....	30
B. Hipotesis.....	34
BAB IV METODE PENELITIAN.....	35
A. Rancangan Penelitian.....	35
B. Subjek Penelitian.....	36
C. Instrumen Penelitian.....	37
D. Variabel Penelitian.....	37
E. Definisi Operasional.....	38
F. Prosedur Penelitian.....	38
G. Teknik Pengumpulan dan Pengolahan Data.....	41
H. Cara Analisis Data.....	42
I. Waktu dan Tempat Penelitian.....	42
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
BAB VI PENUTUP.....	49
A. Simpulan.....	49
B. Saran.....	49

DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Alur Ekspresi Mediator Pro-inflamasi yang Melibatkan LPS, IFN- γ , dan CEA-AGE oleh Hidrogen Peroksida.....	15
2.2	Korteks Limbik.....	18
2.3	Formasi Sitoarsitektur Hipokampus.....	19
2.4	Rekonstruksi Segmen Dendrit.....	20
2.5	EPM dari Stoelting Co.....,.....	24
2.6	Jenis Ikan Seluang.....	26
3.1	Kerangka Teori Perubahan Kadar Peroksida Otak Tikus Model Stres Setelah Pemberian Ikan Seluang (Rasbora sp.).....	32
3.1	Kerangka Konsep Perubahan Kadar Peroksida Otak Tikus Model Stres Setelah Pemberian Ikan Seluang (Rasbora sp.).....	33
4.1	Alur Penelitian Perubahan Kadar Peroksida Otak Tikus Model Stres Setelah Pemberian Ikan Seluang (Rasbora sp.).....	41
5.1	Rerata Kadar Hidrogen Peroksida Kelompok K1, P1, dan P2.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Surat Keterangan Kelaikan Etik.....	57
2 Surat Keterangan Rekognisi.....	58
3 Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	59
4 Data Hasil Penelitian.....	61
5 Hasil Analisis Data Menggunakan SPSS.....	62

DAFTAR SINGKATAN

Abs	: Absorbansi
ACTH	: <i>Adrenocorticotropic hormone</i>
AGE	: <i>Advanced Glycation End Product</i>
ARE	: <i>Antioxidant Response Element</i>
CA	: <i>Cornu ammonis</i>
CRH	: <i>Corticotrophin releasing hormone</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
DG-CA3	: <i>Dentate gyrus - Cornu ammonis</i>
DHA	: <i>Docosahexanoic acid</i>
FE ³⁺	: <i>Ferric</i>
GPx1	: <i>Cytosolic glutathione peroxidase</i>
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
HPA	: <i>Hypothalamus-pituitary-adrenal</i>
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin 1 beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IRS	: <i>Integrated stress respons</i>
Keap1	: <i>Kelch-like ECH-associated protein</i>
Litbangkes	: Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
LPHA	: <i>Limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>

NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NOX	: Nitrit oksida
NRF2	: <i>Nuclear factor erythroid-related factor 2</i>
O ₂ ⁻	: Superoksida
PBS	: <i>Phosphate buffered saline</i>
PGE2	: Prostaglandin E2
PPDGJ	: Pedoman Penggolongan dan Diagnosis Gangguan Jiwa
Riskesdas	: Riset Kesehatan Dasar
ROS	: <i>Reactive species oxygen</i>
SAM	: <i>Sympathetic-adrenal-medullary</i>
SOD	: Superoxida dismutase
TNF α	: Tumor nekrosis faktor alfa

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Stres adalah usaha penyesuaian diri untuk mengembalikan keseimbangan badan dan jiwa yang terganggu.¹ Di Indonesia stres juga masih menjadi permasalahan besar dibuktikan dengan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 yang menunjukkan terdapat 9,8% penduduk Indonesia mengalami gangguan mental emosional pada usia di atas 15 tahun. Data ini menunjukkan peningkatan dari yang sebelumnya hanya 6% pada tahun 2013.²

Berdasarkan Laporan Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023, terdapat 450 juta penderita gangguan jiwa di seluruh dunia.³ Gangguan jiwa ini berkontribusi terhadap 14% dari seluruh penyakit global.³ Pada laporan SKI 2023, angka masalah kesehatan jiwa di Indonesia mengalami penurunan, yaitu 2% yang dinilai dari *Self Reporting Questionnaire-20* (SRQ-20).³ Masalah kesehatan jiwa ini paling banyak diderita oleh kelompok usia dewasa muda dan remaja (15-24 tahun) dengan berbagai alasan, salah satunya adalah sulitnya bersosialisasi karena penggunaan teknologi, hiperkonektivitas sosial media, perundungan, lingkungan sosial negatif, stres akademik, dan yang lainnya.³

Secara biologis, sistem *sympathetic-adrenal-medullary* (SAM) dan *hypothalamus-pituitary-adrenal* (HPA) teraktivasi saat manusia berada pada kondisi stres.⁴ Melalui stimulasi kelenjar hipofisis, korteks adrenal melepaskan hormon kortisol yang berperan sebagai hormon stres.⁵ Terdapat 80 studi yang

menunjukkan peningkatan kortisol dalam waktu panjang dapat berkontribusi terhadap perburukan kondisi kesehatan fisik dan jiwa.⁴ Salah satu efek utama yang diakibatkan oleh stres berkepanjangan adalah inflamasi, baik berupa inflamasi perifer maupun neuroinflamasi.⁶

Paparan stresor intens dapat mengakibatkan aktivitas imun berlebih. Mediator pro-inflamasi seperti *C-reactive protein* (CRP), IL-6, TNF α , IL-1 β dilepaskan di perifer bersamaan dengan transkripsi *nuclear factor kappa B* (NF- κ B).⁶ Peningkatan mediator pro-inflamasi di perifer ini juga meningkatkan aktivasi mikroglia di sistem saraf pusat.⁶ Mikroglia yang telah diaktivasi akan mengekspresikan reseptor glukokortikoid dan mineralokortikoid di hipotalamus dan korteks prefrontal.⁶

Pada proses inflamasi, makrofag dan neutrofil memproduksi *reactive oxygen species* (ROS) radikal seperti superoksida dan ROS non-radikal seperti hidrogen peroksida (H₂O₂).⁷ Spesies radikal bebas tidak sepenuhnya bersifat negatif karena tubuh manusia membutuhkannya untuk proses fisiologis, akan tetapi harus diimbangi dengan ketersediaan antioksidan.⁸ Tubuh memiliki sistem antioksidan endogen yang dapat menetralkan meningkatnya pro-oksidan, seperti katalase, SOD, dan Glutation peroksidase. Ekspresi dari antioksidan ini diatur oleh banyak protein, termasuk Nrf-2 pada sistem Keap1-Nrf2-ARE. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dapat merusak sel dan mengakibatkan terjadinya mutasi sel, kerusakan membran protein, reseptor, kanal ion dan enzim.⁸

Ikan seluang (*Rasbora argyrotaenia*) adalah spesies ikan yang bisa ditemukan di sungai air tawar Kalimantan Selatan.⁹ Ikan ini mengandung asam amino esensial

dan non esensial.⁹ Kandungan sistin (0,32%) dan Docosahexaenoic acid (DHA) (1,04%) pada ikan seluang memiliki fungsi sebagai antioksidan. DHA mencegah terjadinya stres oksidatif dan melindungi otak dari kerusakan akibat radikal bebas.^{9,10}

Terdapat banyak penelitian sebelumnya yang menyatakan hubungan antara kadar hidrogen peroksida dengan inflamasi dan kerusakan selular. Namun, belum ada penelitian yang meneliti pengaruh ikan seluang terhadap penurunan kadar hidrogen peroksida pada hewan coba stres. Jumlah ikan seluang yang melimpah menjadikannya sumber daya pangan yang biasa dikonsumsi masyarakat Kalimantan Selatan. Kurangnya penelitian terkait menjadi alasan peneliti ingin melakukan penelitian lebih lanjut terhadap pengaruh ikan seluang terhadap kadar hidrogen peroksida pada hewan coba stres.

B. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian pakan ikan seluang terhadap kadar hidrogen peroksida pada tikus putih yang mengalami stres?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Penelitian ini secara umum bertujuan menganalisis pengaruh pemberian pakan ikan seluang terhadap kadar hidrogen peroksida pada hewan coba yang mengalami stres.

2. Tujuan khusus

Penelitian ini secara khusus memiliki tujuan untuk:

1. Mengetahui kadar hidrogen peroksida pada hewan coba yang diberikan pakan standar dan pakan seluang.
2. Menganalisis pengaruh pemberian pakan ikan seluang terhadap kadar hidrogen peroksida pada hewan coba yang mengalami stres.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan ilmu neurologi dan biokimia mengenai pengaruh pemberian ikan seluang terhadap kadar hidrogen peroksida pada hewan yang mengalami stres. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi referensi peneliti selanjutnya yang akan melakukan penelitian serupa.

2. Manfaat praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat ikan seluang sebagai sumber pangan bagi masyarakat. Meningkatnya wawasan mengenai manfaat ikan seluang dalam mencegah penyakit akibat stres diharapkan dapat meningkatkan produksi dan minat konsumsi ikan seluang.

E. Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian Perubahan Kadar Peroksida Otak Tikus Model Stres Setelah Pemberian Ikan Seluang (*Rasbora sp.*)

No.	Nama Peneliti (Tahun)	Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1	Triawanti T, <i>et al.</i> (2017) ⁹	Reduction of Oxydative Stress by Seluang Fish (<i>Rasbora sp.</i>) in Brain of Malnourished Rats (<i>Rattus norvegicus</i>)	- Subjek penelitian : Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) jantan galur Wistar - Variabel bebas : pakan ikan seluang (<i>Rasborra sp.</i>) - Metode penelitian : <i>true experimental</i>	- Varabel terikat : SOD, Katalase, MDA - Tikus yang diinduksi malnutrisi
2	Didik D, <i>et al.</i> (2022) ¹⁰	Potential Combinations of Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>), Docosahexaenoic Acid, and Seluang Fish (<i>Rasbora sp.</i>) to Improving Oxidative Stress of Rats (<i>Rattus norvegicus</i>) Brain Undernutrition	- Subjek penelitian : Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) jantan galur Wistar - Metode penelitian : <i>true experimental</i>	- Variabel bebas: kombinasi pakan ikan seluang (<i>Rasborra sp.</i>) dan pasak bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>) - Variabel terikat: MDA, katalase, SOD - Tikus yang diinduksi malnutrisi
3	Ewere G, <i>et al.</i> (2022) ¹¹	<i>Irvingia gabonensis</i> leaf extract scavenges nitric oxide and hydrogen peroxide in vitro and modulates arsenic-induced hepatic oxidative stress in wistar rats	- Subjek penelitian: Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) - Metode penelitian: <i>true experimental</i> - Variabel terikat : hidrogen peroksida	- Variabel bebas: ekstrak daun <i>Irvingia gabonensis</i> - Variabel terikat: nitric oxide, - Tikus diinduksi stres oksidasi pada hepar dengan induksi arsenik

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Stres

Stres dapat didefinisikan sebagai upaya makhluk hidup atau organisme untuk menyesuaikan diri terhadap situasi yang mengancam. Situasi yang mengancam ini disebut sebagai *stressor* atau pemicu stres. Paparan *stressor* dengan intensitas berat dapat berujung pada gangguan psikologis bahkan gangguan fisik. Menurut PPDGJ-III tahun 2013, intensitas *stressor* yang berat dapat mengakibatkan gangguan terkait stres (F43.0 – F43.9).¹² Dalam proses menghadapi stres, suatu organisme harus memberikan respons untuk mempertahankan keberlangsungan hidupnya.^{4,13}

Stressor dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu sistemik atau neurogenik, fisik atau psikologis, akut atau kronis, intensitas berat atau ringan, kerap atau tidak.^{14,15} Beban *stressor* dan faktor individual akan mempengaruhi beban yang ditanggung suatu individu. Faktor tersebut termasuk genetik, faktor sosial, pengalaman hidup, dan bagaimana individu tersebut menghadapi *stressor*.¹⁴

Reaksi terhadap *stressor* dapat berupa reaksi fisiologis, perilaku, subjektif maupun verbal.^{14,15} Teori yang paling menjelaskan proses terjadinya stres dan respons fisiologisnya adalah teori aktivasi poros hipotalamus – hipofisis.¹² Poros ini melibatkan tiga organ, yaitu hipotalamus dan hipofisis di sentral, serta kelenjar adrenal di perifer.⁵ Aktivasi poros tersebut memicu sekresi kortisol yang memiliki reseptor di semua tipe sel.¹² Meningkatnya kortisol akan mempengaruhi

metabolisme, imunitas, dan perilaku yang dibutuhkan oleh tubuh untuk membantu dalam menanggulangi tekanan oleh stres.¹²

Corticotrophin releasing hormone (CRH) dilepaskan oleh hipotalamus memicu sekresi hormon adrenocorticotrophin hormone (ACTH).⁵ Hormon yang telah dikeluarkan kemudian akan memicu lapisan fasikulata glandula adrenal untuk menghasilkan hormon kortisol.⁵ Hormon kortisol akan memberikan umpan balik negatif kepada dua hormon regulator di atasnya, yaitu CRH dan ACTH.¹² Banyak gangguan yang dapat menggeser keseimbangan regulasi poros ini, salah satunya adalah gangguan terkait stres yang dapat menurunkan respons ACTH.¹²

B. Hidrogen Peroksida

1. Oksidan dan regulasinya

Oksidasi adalah proses penghilangan satu elektron dari orbitnya.⁷ Oksidan memiliki dua arti, yaitu zat yang berperan sebagai agen oksidasi atau sebagai agen reduksi.⁷ Agen oksidasi bekerja dengan mengambil satu elektron dari spesies reaktif lainnya, sedangkan agen reduksi bekerja dengan memberikan satu elektronnya.⁷

Radikal bebas adalah segala spesies yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan.⁷ Elektron lebih stabil jika berpasangan, sehingga radikal bebas bersifat lebih reaktif karena memiliki tendensi berpasangan dengan elektron lainnya untuk mencapai kestabilan.⁷ Tidak semua spesies reaktif adalah radikal bebas, tetapi ada juga yang termasuk dalam non-radikal bebas. Radikal dibagi menjadi tiga kelas, yaitu *reactive species oxygen (ROS)*, *reactive nitrogen species*, dan *reactive chlorine species*.⁷

Hidrogen peroksida, radikal hidroksil, dan superoksida termasuk dalam kelompok ROS.⁷ Saat terjadi *respiratory burst*, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) teroksidasi oleh NADPH oxydase (NOX) dan terbentuk O_2^- . Superoksida umumnya diproduksi dari *mitochondrial electron transport chain* yang berada di banyak bagian subselular. Superoksida diproduksi pada kompleks I dan III membran dalam mitokondria sebagai hasil reduksi monoelektron oksigen.¹⁶ Kemudian, spesies reaktif ini dikonversi menjadi H_2O_2 oleh superoksida dismutase (SOD). Rantai reaksi dilanjutkan dengan perubahan menjadi molekul air dan oksigen oleh enzim katalase.¹⁶ Pada konsentrasi tinggi, H_2O_2 dapat berinteraksi dengan ion logam aktif yang kemudian berubah menjadi bentuk radikal hidroksil yang lebih reaktif.¹⁶

ROS yang diproduksi pada *respiratory burst* memiliki fungsi vital pada proses pengantaran sinyal dan fungsi fisiologis sel, termasuk proliferasi sel, diferensiasi sel, apoptosis, dan respons imun.¹⁶ Terdapat mekanisme regulasi yang memastikan kadar ROS dalam tubuh tetap pada kadar aman dan tidak menyebabkan kerusakan struktural dan fungsional sel, tetapi tetap dapat berfungsi sebagai pengantar sinyal.¹⁶ Mekanisme ini disebut *ROS-responsive signaling pathway* yang terdiri atas komponen sensor dan komponen efektor.¹⁶

Activator Protein-1 (AP-1) adalah salah satu faktor transkripsi yang esensial untuk mempertahankan keseimbangan sel. Faktor transkripsi ini terdiri atas subfamili protein Jun, Fos, Maf, dan ATF. Stimulasi oleh ROS akan mengaktifkan

mitogen-activated protein kinase, yang kemudian akan menyebabkan fosforilasi AP-1. Fosforilasi ini meningkatkan kadar protein c-Fos dan c-Jun sehingga terbentuk ikatan DNA yang lebih kuat. Proses ini berujung pada regulasi ekspresi sekuens DNA (TGACTCA) yang dibutuhkan pada regulasi seluler.¹⁶

Nuclear-Factor Kappa B (NF- κ B) yang terdiri atas NF- κ B1, NF- κ B2, p65/RelA, c-Rel, dan RelB juga termasuk dalam faktor transkripsi yang berperan dalam proses regulasi seluler.¹⁶ Berbeda dengan AP-1 yang diaktivasi langsung oleh ROS, NF- κ B teraktivasi melalui stimulasi reseptor proinflamasi. Akan tetapi, kerusakan DNA akibat ROS dapat mengaktifkan faktor ini secara tidak langsung. Peran faktor transkripsi ini penting dalam regulasi gen antioksidan dan pro-oksidan untuk mencegah stres oksidatif. Peningkatan ROS berperan dalam aktivasi NF- κ B, sedangkan antioksidan memblokir aktivasinya. ROS melepaskan NF- κ B dari kompleks inhibitorinya di sitoplasma sehingga translokasi ke nukleus dapat terjadi.^{16,17} Peningkatan ROS yang biasanya terjadi bersamaan dengan respon terhadap patogen, stres, peningkatan sitokin dapat merusak regulasi NF- κ B.¹⁸ Hal ini menurunkan respon umpan balik negatif yang berujung pada aktivasi persisten dari NF- κ B.¹⁹

Aktivitas *p53* yang dikenal sebagai penjaga gen juga dimodulasi oleh ROS. Hal ini terjadi karena peningkatan ROS dapat merusak DNA. Residu sistein pada MDM2 dapat teroksidasi oleh ROS sehingga merusak interaksinya dan mengaktifkan *p53*. Setelah proses tersebut, *p53* translokasi dari sitoplasma ke nukleus dan mempengaruhi ekspresi gen pada proses perbaikan DNA, siklus sel, dan apoptosis. *p53* berperan sebagai mekanisme pencegahan kerusakan sel lebih

lanjut, dan menempatkan sel pada fase istirahat agar dapat memperbaiki kerusakan DNA.^{16,20}

Mekanisme regulasi dengan ROS sebagai pemeran sentralnya adalah jalur Keap-1-Nrf2-ARE. Nrf2 merupakan faktor transkripsi yang ada di semua tipe sel dan kadarnya dipertahankan rendah pada kondisi normal tanpa stres. Regulasi ini diperankan oleh Keap-1 yang berinteraksi dengan Nrf2 di sitoplasma menyebabkan degradasi Nrf2 oleh proteasom. Pada proses ini, sensor sistein (C151, C273, C288) Keap-1 bereaksi dengan ROS pada kondisi stres dan menyebabkan Nrf2 terlepas dari Keap-1.²¹ Seiring waktu, Nrf2 terakumulasi dan berpindah ke nukleus sel. Translokasi Nrf2 ke nukleus dilanjutkan dengan ikatan bersama *Antioksidan Response Elements (AREs)*.^{16,22}

Gen NFE2L2 membawa ARE di regio promoternya yang membuat NRF2 memiliki kemampuan untuk mengaktifkan transkripsinya sendiri. Selain itu, ARE meningkatkan efek Nrf2 melalui mekanisme umpan balik positif. Transkripsi NFE2L2 sendiri diregulasi oleh beberapa faktor, termasuk aryl hydrocarbon receptor (AhR) dan NF- κ B. Terlebih lagi, gen ini membawa reseptor NF- κ B yang membuktikan bahwa gen ini juga diregulasi oleh NF- κ B.²¹

Ekspresi ARE yang terstimulasi oleh Nrf2 memiliki sifat sitoprotektif dalam respons terhadap stres pada proses eliminasi pro-oksidan.²³ Jalur antioksidan yang diinduksi oleh Nrf2 termasuk enzim untuk produksi reduced glutathione (GSH), Glutamate-cysteine ligase catalytic (GCLC) and modulator (GCLM) subunit, Glutathione synthetase (GSS).²³ Selain itu, enzim redoks seperti thioredoxin, thioredoxin reductase, sulfiredoxin, peroxiredoxin, glutathione peroxidase,

superoxide dismutase 1 (SOD1), and catalase (CAT), and several glutathione S-transferases juga merupakan target dari Nrf2.²³

2. Antioksidan

Sesuai dengan lini pertahanannya, antioksidan dapat dibedakan menjadi *preventive antioxidant* sebagai lini pertama, *radical scavenging antioxidant* sebagai lini kedua, *de novo enzyme* sebagai lini ketiga, dan lini keempat berupa mekanisme adaptasi.²⁴ Antioksidan lini pertama berperan sebagai pencegahan stres oksidatif. Contoh antioksidan lini pertama adalah enzim SOD, katalase, GPx, GSH. Antioksidan lini kedua bekerja dengan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang lebih aman, seperti vitamin C, vitamin E, dan flavonoid.²⁴

Selain berdasarkan lini pertahanannya, antioksidan juga dapat dibedakan dari cara kerjanya berupa proses enzimatik atau non-enzimatik. Salah satu antioksidan yang bersifat enzimatik adalah SOD, katalase, dan GPx.²⁴ SOD adalah antioksidan endogen lini pertama yang paling poten. Terdapat empat jenis SOD berdasarkan logam penyusunnya, yaitu Cu/Zn-SOD dengan logam tembaga/seng, Fe-SOD dengan logam besi, Mn-SOD dengan logam magnesium, serta Ni-SOD dengan logam nikel.²⁵ Pada sel, isoform SOD yang berada pada regio sitoplasma adalah Cu/Zn-SOD atau SOD1, sedangkan yang berada pada regio ekstraseluler dan dapat ditemukan di semua jaringan adalah EC-SOD atau SOD3.²⁶ Peran utama dari SOD adalah mengubah superoksida yang sangat reaktif menjadi bentuk kurang reaktif dan lebih stabil, yaitu hidrogen peroksida. Karena superoksida tidak permeabel terhadap membran, spesies reaktif ini harus didetoksifikasi di tempat terbentuknya. Hal ini dapat diimbangi oleh persebaran SOD yang berada di banyak bagian sel.

Pada organisme eukariotik, Mn-SOD biasanya ditemukan pada mitokondria dan Cu/Zn-SOD ditemukan pada sitoplasma.²⁶

Berbeda dengan SOD, katalase dapat ditemukan pada peroksisom dan tidak ditemukan pada mitokondria mamalia kecuali pada sel jantung. Katalase berfungsi pada proses pemecahan hidrogen peroksida menjadi molekul air dan oksigen. Proses ini terjadi melalui dua tahap. Tahap pertama terjadi dengan oksidasi heme menjadi spesies *oxyferryl* dan dilanjutkan tahap kedua dengan aktivasi kembali enzim yang sebelumnya tidak aktif untuk memproduksi air dan oksigen. Absensi dari katalase pada beberapa bagian sel menunjukkan bahwa pemecahan hidrogen peroksida di mitokondria membutuhkan enzim lain selain katalase.²⁶

Gluthatione peroxidase (GPx) adalah enzim yang tidak hanya berperan sebagai penyeimbang oksidan, tetapi juga menghambat peroksidase lipid. GPx bergantung terhadap mikronutrisi yaitu selenium, sehingga sering juga disebut sebagai *selenocysteine peroxidase*. Terdapat delapan jenis enzim GPx pada manusia, dari GPx1 – GPx8. Bentuk paling banyak didapatkan di semua jenis sel adalah bentuk GPx1. Berbeda dengan GPx2 yang hanya ditemukan di saluran pencernaan dan GPx3 di ginjal. Berbeda dengan katalase, GPx tidak dapat menjadi antioksidan seefektif katalase karena perannya yang lebih cenderung sebagai penghambat peroksidase lemak.²⁷

3. Hidrogen peroksida

Hidrogen peroksida (H_2O_2) adalah oksidan kuat dengan dua elektron dan potensial reduksi standar sebesar 1,32 V pada pH 7,0. Jika dibandingkan dengan oksidan lain seperti radikal hidroksil (2,31 V), H_2O_2 adalah oksidan yang cenderung

lemah (0,32 V). Selain itu, H_2O_2 memiliki pK_a 11,6 sehingga cenderung tidak bermuatan pada kondisi pH fisiologis. Molekul ini adalah produk sampingan yang dihasilkan dari proses respirasi dan reaksi metabolisme sel. H_2O_2 sebagai produk sampingan didapatkan dari respirasi yang menggunakan oksigen. Selain itu, H_2O_2 juga dihasilkan untuk menjadi substrat dari peroksidase pada neutrofil pada proses pertahanan terhadap mikroba.²⁸

Ada banyak proses dan jalur dalam menghasilkan H_2O_2 , salah satunya adalah dari oksidasi NADPH. NADPH oksidase (NOXs) adalah zat yang mengkatalisis oksidasi NADPH dan reduksi oksigen untuk menghasilkan superoksida. Terdapat tujuh famili NOXs pada mamalia, yaitu NOX1-5 dan DUOX1-2.^{29,30} Enzim ini berupa kompleks multi komponen terasosiasi membran yang bekerja dengan mentransfer elektron dari NADPH ke oksigen melewati membran sel. NOX diaktivasi oleh berbagai macam stimuli di berbagai macam membran, seperti membran plasma, endosom, retikulum endoplasma, dan membran nukleus.³⁰

Selain melalui oksidasi NADPH, terdapat juga proses enzimatik yang dapat menghasilkan H_2O_2 . Proses enzimatik ini melibatkan enzim peroksisomal, *acylCoA oksidase*, *polyamine oxidase*, dan *D-amino acid oxidase* yang mereduksi oksigen menjadi H_2O_2 saat proses oksidase substrat masing masing enzim. Katalase adalah salah satu enzim yang memiliki kapasitas memecah H_2O_2 yang tinggi.³¹

Peningkatan kadar H_2O_2 di satu bagian sel harus disertai dengan tingginya enzim pemecahnya, seperti katalase, di bagian tersebut.³⁰ Bukan hanya untuk menetralkan dan mencegah kerusakan pada bagian itu, tapi juga untuk mencegah difusi H_2O_2 ke bagian lain. Transportasi H_2O_2 terjadi dengan difusi terfasilitasi