

# EFEK EKSTRAK MELON (*Cucumis melo*) dan Gliadin TERHADAP KADAR Hb DAN HbCO TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

Yuyun Erlina Susanti<sup>1</sup>, Bambang Wirjatmadi<sup>2</sup>

Instalasi Gizi RSUD Dr. Soetomo

<sup>2</sup>Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga

Alamat Korespondensi:

Yuyun Erlina Susanti

E-mail: yuyun.erlinayes@gmail.com

## ABSTRACT

*The exposure of cigarette smoke produce CO bond in hemoglobin. Melon (*Cucumis melo*) and gliadin contains of antioxidants that prevent tissue damage. The aim of this study was to analyze the difference of hemoglobin and carboxyhemoglobin concentration in male Wistar rats were exposed to cigarette smoke and had been treated melon extract (*Cucumis melo*) and gliadin. The study was a laboratory experimental design, using Post Test Control Group Design Research and RAL method (Complete Randomize Design). The sample in this study were 25 male Wistar rats aged 3 months. The research was divided into 5 groups with 5 different treatment : control group, the treatment group were given exposure to cigarette smoke, the treatment group were given of cigarette smoke exposure and melon extract (*Cucumis melo*) and gliadin dose of 3 IU / day, 4.5 IU / day, and 9 IU / day. The subject were divided into 5 groups each treated for 28 day. The sample size used Federer formula. The collection of data was obtained from the results of laboratory tests to hemoglobin and Carboxyhemoglobin. Hb and HbCO data collected and analyzed by Manova test at 95% confidence level. The results showed significant difference in average Hb and HbCO concentration ( $p$ -value = 0.000) between male Wistar rats treated and not treated with melon extract (*Cucumis melo*) and gliadin. Melon extract has an effect on the decline of HbCO concentration due to exposure to cigarette smoke.*

**Keywords:** *smoke, melon extract, Hb, HbCO*

## ABSTRAK

Paparan asap rokok menghasilkan ikatan CO terhadap hemoglobin. Melon (*Cucumis melo*) dan gliadin mengandung antioksidan yang mencegah kerusakan jaringan. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis perbedaan kadar Hb and HbCO pada tikus wistar jantan yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak melon (*cucumis melo*) dan gliadin. Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratoris dengan menggunakan desain Control Group Post Test Design dengan menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap). Sampel dalam penelitian ini sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan usia 3 bulan. Penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok dengan perlakuan yang berbeda yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok, kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok dan ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan gliadin dengan dosis sebanyak 3 IU/hari, 4,5 IU/hari dan 9 IU/hari. Subyek dibagi 5 kelompok yang masing-masing mendapat perlakuan selama 28 hari. Data kadar Hb dan HbCO dikumpulkan dan dianalisis dengan uji Manova pada tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan ada perbedaan rerata kadar Hb dan HbCO ( $p$ -value<0,05) pada tikus wistar jantan yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan ekstrak melon. Ekstrak melon berpengaruh terhadap penurunan kadar Hb dan HbCO akibat paparan asap rokok.

**Kata kunci:** asap rokok, ekstrak melon, Hb, HbCO

## PENDAHULUAN

Merokok merupakan kebiasaan yang sangat dinikmati terutama lelaki dewasa (Trixie dkk, 2012). Menurut WHO (2014), hampir 6 juta kematian per tahun diakibatkan oleh asap rokok. Angka ini diperkirakan akan meningkat menjadi lebih dari 8 juta kematian pada tahun 2030. Kebiasaan merokok meningkatkan angka kematian pada penderita asma, pneumonia, influenza dan penyakit system pernapasan lainnya. Sebagian besar dari penderita COPD adalah akibat dari menghirup asap rokok (Hall, 2010).

Asap rokok mengandung sekitar 4 % karbon monoksida, yang cukup untuk meningkatkan kadar karboksihemoglobin darah seorang perokok sampai 10 %. Persentase ini cukup untuk mengganggu aktivitas dan kinerja mental (West, 2010).

Keadaan dimana sel / jaringan kekurangan oksigen disebut keadaan hipoksia. Hipoksia dapat disebabkan karena suplai oksigen berkurang akibat transport oksigen oleh hemoglobin terganggu. Kondisi dimana Hb tidak dapat berfungsi normal akibat terikat dengan CO. Hb yang terikat dengan CO disebut *carboxyhemoglobin* (Soemiratdkk, 2009).

Hemoglobin mempunyai peran penting dalam mengikat, transportasi dan pengiriman oksigen ke seluruh jaringan tubuh yang membutuhkan (Ganong, 2003). Bila berikatan dengan oksigen maka hemoglobin akan menghasilkan pembentukan oksihemoglobin ( $HbO_2$ ). Afinitas pengikatan hemoglobin terhadap oksigen dipengaruhi oleh pH, suhu, dan konsentrasi 2,3-difosgliserat (2,3 DPG) dalam sel darah merah (Hall, 2010).

Kadar hemoglobin dalam darah adalah parameter yang digunakan mengukur anemia dari suatu individu. Karakteristik CO yang penting adalah kemampuan untuk mengikat hemoglobin. Hal ini dapat mengakibatkan pembentukan dari ikatan karboksi-hemoglobin ( $HbCO$ ) yang bersifat 200 kali lebih stabil dibandingkan oksihemoglobin ( $HbO_2$ ). Keracunan karbon

monoksida menyebabkan penurunan kapasitas transportasi oksigen dalam darah oleh hemoglobin dan penggunaan oksigen di tingkat seluler (Amin, 2013).

Paparan asap rokok dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh (Winarsi, 2007). Meningkatnya radikal bebas akan meningkatkan respon imun yaitu aktivasi sel inflamasi. Proses tersebut akan menghasilkan ROS (*reactive oxygen species*) berlebih, yang merupakan oksidan utama dalam tubuh (Harlev dkk, 2015). Senyawa radikal bebas yang berlebih dan berbahaya bagi tubuh dapat diredam dampak negatifnya oleh anti-oksidan.

Melon (*cucumis melo*) mempunyai kandungan karotenoid melon yang tinggi yaitu 640 SI/100 BDD (Wirakusumah, 2006). Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan yang menangkap radikal bebas dan membantu mencegah kerusakan jaringan (Olivia, 2006). Ekstrak melon (*Cucumis melo*) telah dikembangkan sebagai suplemen makanan yang memiliki kandungan SOD tinggi yaitu 100 U/mg yang dikombinasikan dengan gliadin untuk melindungi degradasi asam lambung dan membantu penyerapan di usus sehingga dapat dilepas secara bertahap ke dalam sirkulasi sistemik (Romao, 2015).

Hal ini membuktikan perlu adanya penelitian untuk mengetahui sejauh mana akibat paparan asap rokok dengan cara melihat konsentrasi terhadap kadar Hb dan HbCO pada hewan coba yang diberi ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan gliadin untuk mencegah terhimpunnya senyawa oksidan secara berlebihan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan adalah eksperimen laboratoris dengan menggunakan *Control Group Post Test Design* yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur efek paparan asap rokok terhadap kadar Hb dan HbCO pada tikus yang diberi ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan gliadin pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan perlakuan dengan kelompok

kontrol terhadap kadar HbCO. Untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap).

Rancangan penelitian ini digunakan dengan parameter pengukuran variabel berupa kadar Hb dan kadar HbCO. Perlakuan berupa paparan asap rokok pada tikus *wistar* jantan yang diberi dan tidak diberi ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan *gliadin*.

Rancangan ini memungkinkan mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol.

Sampel penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus strain wistar*). Alasan pemilihan hewan coba tikus dikarenakan, pertama tikus adalah hewan coba yang sering digunakan karena kedekatannya dengan manusia. Keterdekatan tersebut antara lain adalah mamalia, pemakan campuran (omnivore), mudah berkembang biak dan mudah mendapat perlakuan.

Kriteria Inklusi pada penelitian ini adalah Tikus jenis *Rattus novergicus strain wistar*, Jenis kelamin jantan, Umur 3–4 bulan, Berat badan 150–250 gram, Warna bulu putih dan tikus aktif. Kriteria Eksklusinya adalah tikus yang selama penelitian tidak mau makan dan tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung

Besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Federer yaitu sebanyak 25 ekor tikus putih jantan (*rattus novergicus strain wistar*) yang dibagi secara random ke dalam 5 kelompok. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *Simple Random Sampling*.

Sampel penelitian yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Pemeliharaan dan perlakuan serta pengambilan hasil kadar Hb dan HbCO dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2016 sampai Mei 2016. Penelitian

membutuhkan waktu selama 5 minggu dan dibagi dalam dua bagian yaitu Minggu Adaptasi selama 7 hari dan Minggu Perlakuan selama 28 hari. Pada Minggu Adaptasi, hewan coba tikus akan dibiarkan beradaptasi tanpa diberikan perlakuan tambahan selain makanan dan minuman secara tak terbatas.

Kelompok Kontrol tidak diberikan paparan asap rokok. Kelompok Perlakuan dipapar asap rokok, pada kelompok III, IV dan V diberi ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan *gliadin* dengan dosis yang berbeda.

Variabel yang diteliti adalah kadar Hb dan HbCO dalam darah tikus putih jantan galur Wistar dengan umur 3–4 bulan. Variabel independen yaitu pemberian antioksidan ekstrak melon dan *gliadin*.

Asap rokok yang dipaparkan pada hewan coba berasal dari asap rokok kretek tanpa filter dengan kandungan tar 38 mg dan nikotin 2.2 mg yang diberikan 1x/hari yaitu 1 batang rokok / pemaparan. Kadar Hb dan HbCO diukur dari serum darah. Ekstrak melon yang diberikan adalah ekstrak melon (SOD ekstrak melon + white protein matrix) 1x/hr sesuai dosis perhitungan.

Perhitungan dosis dengan menggunakan tabel konversi perhitungan dosis yaitu pada tikus dengan berat 200 gram diasumsikan pada manusia (70 kg) didapatkan perhitungan  $0,018 \times 250 \text{ IU (dosis sehari)} = 4,5 \text{ IU/hari}$ . Jadi dosis sehari yang dapat diberikan pada tikus putih jantan galur wistar adalah 4,5 IU/hari pada hewan coba.

Tikus putih jantan galur Wistar diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga ditempatkan dalam kandang per kelompok dan diperlakukan secara baik dengan memenuhi aspek *five freedom (5-F's)* dan *three R (3-Rs)* (UU No 18,2009), Memiliki ventilasi yang baik, penyiaran normal, suhu dan kelembapan diperhatikan. Pembersihan kandang dan pergantian air minum dilakukan setiap hari. Pemberian makanan berupa pakan tikus standar dengan kadar protein 17% dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

**Tabel 1** Perlakuan untuk masing-masing kelompok

Kelompok	Perlakuan
I	Kelompok kontrol yang hanya diberikan pakan tikus standar dengan kadar protein 17% tanpa adanya perlakuan berupa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak melon ( <i>Cucumis melo</i> ) per oral.
II	Kelompok perlakuan yang diberikan pakan tikus standar dengan kadar protein 17% dan perlakuan berupa paparan asap rokok tetapi tanpa pemberian ekstrak melon ( <i>Cucumis melo</i> ) per oral
III	Kelompok perlakuan yang diberikan pakan tikus standar dengan kadar protein 17% dan perlakuan berupa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak melon ( <i>Cucumis melo</i> ) per oral dengan dosis 3 IU/hr/ekor
IV	Kelompok perlakuan yang diberikan pakan tikus standar dengan kadar protein 17%, perlakuan berupa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak melon ( <i>Cucumis melo</i> ) per oral dengan dosis 4,5 IU/hr/ekor.
V	Kelompok perlakuan yang diberikan makanan, perlakuan berupa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak melon ( <i>Cucumis melo</i> ) per oral dengan dosis 9 IU/hr/ekor

Tikus sebelum digunakan penelitian dilakukan adaptasi atau diaklimatisasi yaitu Minggu Adaptasi selama 7 hari dan Minggu Perlakuan selama 28 hari. Pada Minggu Adaptasi, hewan coba tikus akan dibiarkan beradaptasi tanpa diberikan perlakuan tambahan selain makanan dan minuman secara *ad libitum*.

Penelitian dilakukan selama 28 hari. Pada kelompok kontrol (I) tidak diberikan paparan asap rokok. Kelompok II–V dipapar asap rokok 1 batang sebanyak 1x/

hr. Kelompok III–V memperoleh perlakuan tambahan yaitu pemberian ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan gliadin dengan dosis yang berbeda dengan menggunakan tabel konversi perhitungan dosis.

Pada hari ke 28 perlakuan, tikus diinjeksi anestesi. Tikus diinjeksi menggunakan *ketalar* secara intra muskuler pada paha tikus. Saat tikus dalam kondisi teranestesi, dilakukan pembedahan untuk mengambil darah dari jantung. Sampel darah disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm, diambil serum darah untuk pemeriksaan kadar Hb dan HbCO.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus beserta kelengkapan tempat makanan dan minuman, timbangan elektrik, sarung tangan, *smoking pump*, thermometer, tabung mikrohematokrit, tabung endorf, timbangan analitik, sonde lambung, homogeniser, mikro pipet dan tip, water bath, vortex, tabung polypropylene, ice bath, *sentrifuge*, cartridge ges C18, spektrofotometer untuk pemeriksaan kadar HbCO, *discenting kit*, bak paraffin, kertas label, *cover glass*, *object glass*, oven, *rotary microtome*, *staining kit*, holder, cawan petri, pipet Pasteur, minyak emersi, dan mikroskop.

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tikus putih jantan galur Wistar dengan umur 3–4 bulan, ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan gliadin, rokok kretek tanpa filter dengan kandungan tar 38 mg dan nikotin 2.2 mg, pakan tikus standar dengan protein 17 %, air minum, *ketalar*, larutan TBA, methanol, aquades, formalin 10 %, alkohol 70 % dan alkohol absolut.

Data kadar Hb dan HbCO yang terkumpul dianalisis dengan menggunakan analisis perbandingan antar kelompok dengan uji *Manova* dengan syarat data harus berdistribusi normal. Untuk mengetahui data berdistribusi normal dilakukan analisis normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, sedangkan untuk mengetahui varian data dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene Test*. Apabila terdapat perbedaan

yang nyata atau sangat nyata antar perlakuan maka dilakukan uji LSD (*Least Significance Difference*). Untuk melihat seberapa besar perbedaan tiap kelompok perlakuan dengan tingkat kemaknaan 95 % ( $p < 0,05$ ).

Penelitian ini telah mendapatkan sertifikat kaji etik dari komisi etik penelitian kesehatan dari Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya.

## HASIL

### Kadar Hb

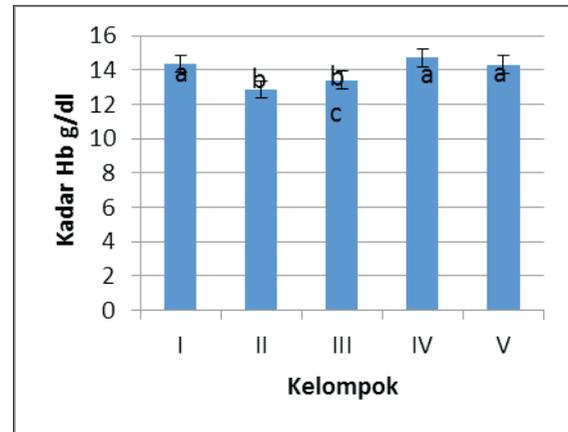
Pada gambar 1 dapat dilihat rerata kadar Hb paling tinggi terdapat pada kelompok IV yaitu yang diberikan pakan standart dan perlakuan berupa ekstrak 4,5 IU/hr yaitu sebesar  $14,70 \pm 0,48$ .

Grafik rerata kadar Hb dapat dilihat pada gambar 1. Berdasarkan uji statistik didapatkan data berdistribusi normal yaitu  $p = 0,760$  ( $p > 0,05$ ). Data pengukuran kadar Hb berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan melakukan uji homogenitas varian (*Levene Test*).

Hasil *Levene Test* menunjukkan nilai signifikansi kadar HbCO adalah  $p = 0,166$ . Hal ini berarti variabel tersebut memiliki varian yang sama sehingga dapat dianalisis dengan uji *Manova*. Nilai signifikansi kadar Hb lebih besar dibandingkan dengan nilai  $\alpha = 0,05$  yang berarti varian variabel dapat dikatakan homogen.

Perbedaan kadar Hb antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan uji *Manova* dengan tingkat kepercayaan 95 % diperoleh  $pvalue = 0,002$ , yang artinya minimal ada sepasang kelompok yang memiliki perbedaan rerata kadar Hb.

Hasil LSD menunjukkan perbedaan rerata kadar Hb pada masing-masing kelompok yaitu : Variabel kadar Hb pada kelompok kontrol negatif menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr).



**Gambar 1.** Rerata Hb →

- I : Kontrol Negative
- II : Kontrol Positif
- III : Ekstrak Melon 3IU/hr
- IV : Ekstrak Melon 4,5 IU/hr
- V : Ekstrak Melon 9 IU/hr

Variabel kadar Hb pada kelompok kontrol positif menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif, kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) dan pemberian ekstrak melon (9 IU/hr) dimana setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,002$ ;  $p = 0,000$  dan  $p = 0,003$  ( $p < 0,005$ ). Sedangkan pada kelompok kontrol positif dengan pemberian ekstrak melon (3 IU/hr) tidak ada perbedaan nyata dengan nilai signifikansi  $p = 0,193$  ( $p > 0,05$ ).

Variabel kadar Hb pada kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr), menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr) dengan kelompok kontrol negatif, kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr), dan kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr), setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,041$ ;  $p = 0,007$  dan  $p = 0,049$  ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr) dengan kelompok kontrol positif tidak terdapat perbedaan nyata karena nilai signifikansi  $p = 0,193$  ( $p > 0,05$ ).

Variabel kadar Hb pada kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr), menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) dengan kelompok kontrol positif, dan kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr), dimana setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,000$  dan  $p = 0,007$  ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) dengan kelompok kontrol negatif dan pemberian ekstrak melon (9 IU/hr) tidak terdapat perbedaan nyata karena nilai signifikansi  $p = 0,439$  dan  $p = 0,388$  ( $p > 0,05$ ).

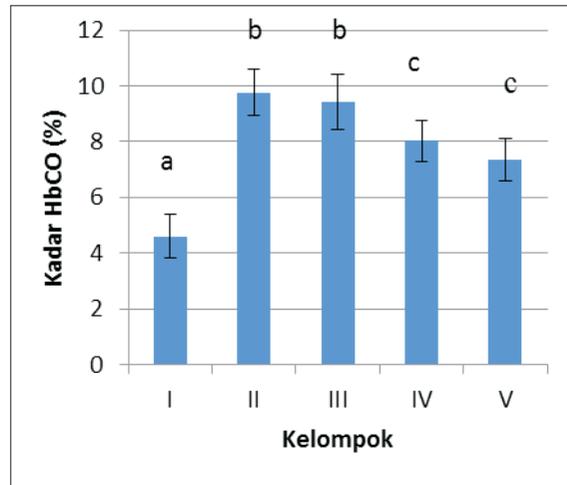
Variabel kadar Hb pada kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr), menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr) dengan kelompok kontrol positif, dan kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr), setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,003$ ;  $p = 0,049$  ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr) dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) tidak terdapat perbedaan nyata karena nilai signifikansi  $p = 0,927$  dan  $p = 0,214$  ( $p > 0,05$ ).

### Kadar HbCO

Pada gambar 2 dapat dilihat rerata kadar HbCO paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol positif yaitu yang diberikan pakan standart dan perlakuan berupa paparan asap rokok tetapi tanpa pemberian ekstrak melon, yaitu sebesar  $9,77 \pm 0,81$ .

Grafik rerata kadar HbCO dapat dilihat pada gambar 2. Berdasarkan uji statistik didapatkan data berdistribusi normal yaitu  $p > 0,05$ . Data pengukuran kadar HbCO berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan melakukan uji homogenitas varian (*Levene Test*).

Hasil *Levene Test* menunjukkan nilai signifikansi kadar HbCO adalah  $p = 0,879$ . Hal ini berarti variabel tersebut memiliki varian yang sama sehingga dapat dianalisis dengan uji *Manova*. Nilai signifikansi kadar



Gambar 2. Rerata HbCO →

- I : Kontrol Negative
- II : Kontrol Positif
- III : Ekstrak Melon 3IU/hr
- IV : Ekstrak Melon 4,5 IU/hr
- V : Ekstrak Melon 9 IU/hr

HbCO lebih besar dibandingkan dengan nilai  $\alpha = 0,05$  yang berarti varian variabel dapat dikatakan homogen.

Perbedaan kadar Hb CO antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan uji *Manova* dengan tingkat kepercayaan 95 % diperoleh  $pvalue = 0,000$ , yang artinya minimal ada sepasang kelompok yang memiliki perbedaan rerata kadar HbCO.

Hasil LSD menunjukkan perbedaan rerata kadar HbCO pada masing-masing kelompok yaitu : Variabel kadar HbCO pada kelompok kontrol negative menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr), pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) dan pemberian ekstrak melon (9 IU/hr), setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ).

Variabel kadar HbCO pada kelompok kontrol positive menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif, kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) dan pemberian ekstrak melon (9 IU/hr)

hr) dimana setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,000$ ;  $p = 0,003$  dan  $p = 0,000$  ( $p < 0,005$ ). Sedangkan pada kelompok kontrol positif dengan pemberian ekstrak melon (3 IU/hr) tidak ada perbedaan nyata dengan nilai signifikansi  $p = 0,505$  ( $p > 0,05$ ).

Variabel kadar HbCO pada kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr), menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr) dengan kelompok kontrol negatif, kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr), dan kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr), setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,000$ ;  $p = 0,014$  dan  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr) dengan kelompok kontrol positif tidak terdapat perbedaan nyata karena nilai signifikansi  $p = 0,505$  ( $p > 0,05$ ).

Variabel kadar HbCO pada kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr), menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr), dimana setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,000$ ;  $p = 0,003$  dan  $p = 0,014$  ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) dengan kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr) tidak terdapat perbedaan nyata karena nilai signifikansi  $p = 0,214$  ( $p > 0,05$ ).

Variabel kadar HbCO pada kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr), menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr) dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok pemberian ekstrak melon (3 IU/hr), setiap kelompok ini memiliki nilai signifikansi  $p = 0,000$ ;  $p = 0,000$  dan  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak melon (9 IU/hr) dengan kelompok pemberian ekstrak melon (4,5 IU/hr) tidak terdapat perbedaan nyata karena nilai signifikansi  $p = 0,214$  ( $p > 0,05$ ).

### **Hubungan antara Kadar Hb dan Kadar HbCO**

Hubungan antara Kadar Hb dan HbCO menunjukkan adanya hubungan korelasi yaitu korelasi negative dan hubungan yang terjadi antara kedua kelompok ditunjukkan dengan data  $r = -0,483$  dan nilai signifikansi  $p = 0,014$  ( $< 0,05$ ).

### **PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk melihat apakah ada pengaruh paparan asap rokok terhadap kadar Hb dan kadar HbCO pada tikus wistar jantan yang diberi ekstrak melon (*Cucumis melo*). Hasil yang diperoleh dari penelitian ini secara preventif menunjukkan bahwa kelompok yang diberi paparan asap rokok disertai dengan pemberian ekstrak melon menunjukkan adanya kenaikan kadar Hb dan penurunan kadar HbCO dibandingkan dengan kelompok yang hanya dipapar asap rokok tanpa diberi ekstrak.

Kelompok yang hanya dipapar asap rokok didapatkan rerata kadar Hb sebesar  $12,84 \pm 0,84$  gr/dl dan kadar HbCo  $9,77 \pm 0,81$  %. Kelompok perlakuan yang mendapat ekstrak melon didapatkan hasil rerata Hb tertinggi pada 4,5 IU/hr ( $14,70 \pm 0,48$  gr/dl) dan rerata kadar HbCO terendah pada 9 IU/hr ( $7,55 \pm 0,97$  %).

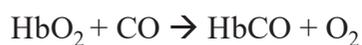
Hal ini didukung penelitian Frank (2011) yang menyatakan adanya paparan asap rokok 3 kali sehari menunjukkan hasil Hb CO pada kelompok yang dipapar asap rokok mempunyai rerata HbCO  $13,2 \pm 1,3$  %.

Merokok terutama asap rokok, adalah determinan utama dari kadar HbCO. Ada hubungan dosis-respons yang kuat antara jumlah rokok yang dihisap dan kadar Hb CO sampai 20 batang/hari, sejalan dengan penelitian sebelumnya pada pria di Inggris pada tahun 1975–1982 yang menunjukkan hubungan antara konsumsi rokok yang tinggi dengan kadar HbCO (Whincup *et al*, 2006). Hal ini menunjukkan bahwa akibat asap rokok pada konsumsi rokok yang tinggi menunjukkan kadar Hb CO dapat memberikan prediksi resiko kardiovaskular.

Radikal bebas yang terdapat pada asap rokok di dalam jumlah yang sangat tinggi dan memiliki sifat yang tidak stabil dapat merusak jaringan. Kelainan paru yang diakibatkan oleh radikal bebas yang terdapat pada rokok akan menyebabkan gangguan atau kelainan pada saluran pernafasan, mulai dari trakea, bronkus, dan bronkiolus sampai pada alveoli paru (Nurliani dkk, 2012).

Asap rokok akan merangsang peradangan pada sel dan produksi proteinase, keduanya yang terlibat dalam terjadinya emfisema dan bronchitis kronis. Selain itu, paparan asap rokok secara terus menerus diketahui sebagai pemicu penurunan elastisitas paru serta saluran nafas (Abboud dan Vimalanathan, 2008; Churg *et al*, 2008).

Karbon monoksida yang berikatan dengan hemoglobin dapat menggeser oksigen yang terikat pada hemoglobin dan mengikat Hb menjadi karboksi hemoglobin seperti pada reaksi berikut :



Karena berikatan 250 kali lebih kuat daripada oksigen, karbon monoksida dalam jumlah kecil sudah dapat mengikat banyak hemoglobin dan membuat hemoglobin tidak dapat mengangkut oksigen (Hall, 2010). Keadaan hipoksemia kronik dapat meningkatkan pembentukan 2,3-difosfoglisarat, suatu senyawa yang berikatan dengan hemoglobin dan menurunkan afinitas hemoglobin terhadap oksigen (Hall, 2010).

Efek toksisitas utama adalah hasil dari hipoksia seluler yang disebabkan oleh gangguan transportasi oksigen. CO akan mengikat hemoglobin secara reversibel, yang akan menyebabkan anemia relative karena CO mengikat hemoglobin 230–270 kali lebih kuat daripada oksigen, yang menyebabkan ketersediaan oksigen untuk jaringan akan menurun. Kadar Hb CO 16 % sudah dapat menimbulkan gejala klinis (Hall, 2010).

Salah satu jalur yang dapat berkontribusi pada efek kesehatan yang tidak diinginkan dari merokok adalah paparan

oksidatif stres. Stres oksidatif disebabkan oleh asap rokok karena efek langsung dari radikal yang ada dalam asap. Adanya dan produksi dari radikal bebas dan oksigen reaktif lainnya dan spesies nitrogen (ROS dan RNS) dari asap rokok mungkin menjadi faktor penyumbang penyakit yang berhubungan dengan merokok. Asap rokok mampu memulai atau mempromosikan kerusakan oksidatif (Luchese dkk, 2009).

Asap rokok adalah biphasic (gas dan partikulat). Dalam fase gas, karbon monoksida dilepaskan dimana menjadi penyebab stress oksidatif, dan dalam fase partikulat, nikotin dan tar yang dilepaskan (Harlev, 2015).

Hemoglobin adalah sebuah biomolekul yang dapat mengikat oksigen. Hemoglobin akan dapat mengikat oksigen dengan cara mengambil oksigen dari paru-paru dan menyalurkan ke seluruh tubuh yang membutuhkan. Hemoglobin juga sebagai pengusung karbondioksida kembali menuju paru-paru untuk dihembuskan keluar tubuh. Hemoglobin adalah pigmen yang memberikan warna merah pada sel darah merah. Hemoglobin merupakan gabungan kelompok “heme” dan “globins” (protein). Hemoglobin terdiri dari empat protein-dua globin rantai alpha dan dua rantai-masing beta dengan kelompok heme. Setiap hemoglobin memiliki dua rantai alpha ( $\alpha$ ) dan dua rantai beta ( $\beta$ ). Setiap rantai adalah sebuah subunit protein globular yang menyerupai myoglobin di rangka dan sel otot jantung. Seperti myoglobin, setiap rantai hemoglobin mengandung molekul heme, suatu pigmen non-protein kompleks. Setiap unit heme memiliki ion besi sehingga ion besi tersebut bisa berikatan dengan molekul oksigen, membentuk oksihemoglobin (HbO). Kelompok heme yang mengandung satu atom besi dapat mengikat satu molekul oksigen. Karena setiap molekul hemoglobin berisi empat globins, dapat membawa sampai empat molekul oksigen (Dean, 2005).

Keracunan karbon monoksida dapat menyebabkan turunnya kapasitas transportasi

oksigen dalam darah oleh hemoglobin dan penggunaan oksigen di tingkat seluler. Karbonmonoksida mempengaruhi berbagai organ di dalam tubuh, organ yang paling terganggu adalah yang mengkonsumsi oksigen dalam jumlah besar, seperti otak dan jantung (Soekanto, 2007). Hal ini dapat dilihat pada tingginya kadar HbCO pada paparan asap rokok yang tidak diberikan ekstrak melon.

Perlakuan pada hewan coba secara preventif dengan menggunakan ekstrak melon dapat mencegah penurunan kadar Hb dan kenaikan kadar HbCO yang diakibatkan oleh paparan asap rokok. Hal ini sejalan dengan penelitian Hall *et al* (2010) yaitu keadaan hipoksemia kronik dapat meningkatkan pembentukan 2,3-difosfoglisarat, suatu senyawa yang berikatan dengan hemoglobin dan menurunkan afinitas hemoglobin terhadap oksigen. Interaksi hidrofobik antaragliadin dan protein bisa mendefinisikan efektifitas secara oral dari SOD sehingga dihasilkan gliadin kombinasi monophasic/protein yang mampu menargetkan permukaan biologis enterosit (Calderon de la Barca *et al*, 1996) dan dapat meningkatkan penyerapan protein.

Hal ini sejalan dengan penelitian Nakajima *et al* (2009) yang menyatakan bahwa di usus, makrofag akan mengikat SOD ekstrak melon dan *gliadin* yang akan menstimulasi pelepasan NO ke dalam darah.

Melon (*cucumis melo*) mempunyai kandungan karotenoid melon yang tinggi yaitu 640 SI/100 BDD Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan yang menangkap radikal bebas dan membantu mencegah kerusakan jaringan (Olivia, 2006). Pada bagian peroksisom dan glikosom di buah melon, terdapat juga aktifitas SOD (Winarsi, 2007). Ekstrak melon (*Cucumis melo*) telah dikembangkan sebagai suplemen makanan yang memiliki kandungan SOD tinggi yaitu 100 IU/mg yang dikombinasikan dengan gliadin untuk melindungi degradasi asam lambung dan membantu penyerapan di usus

sehingga dapat dilepas secara bertahap ke dalam sirkulasi sistemik (Romao, 2015).

Enzim SOD melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya proses peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menyebabkan stress oksidatif (Wolfgang *dkk*, 2014). Gliadin gandum biopolymeric sebagai molekul aktif digunakan untuk melindungi terhadap proses pencernaan (Renard *dkk*, 2002), berinteraksi dengan penyerapan pada epitel usus sehingga dapat melakukan pengiriman mukosa dari molekul aktif (Fassano *dkk*, 2000).

Hal ini juga sejalan dengan penelitian Romao (2015) yang menyatakan bahwa sejak tahun 2000, ekstrak melon dengan SOD yang diperkaya secara alami telah dikembangkan untuk digunakan sebagai suplemen makanan. Peningkatan aktivitas SOD endogen untuk tikus yang diberi SOD ekstrak melon dan *gliadin* selama 28 hari dapat mempengaruhi kelangsungan hidup sel. Hal ini ditunjukkan oleh penurunan apoptosis hepatosit dan peningkatan resistensi terhadap hemolisis dari eritrosit dan depolarisasi membran mitokondria.

Romao (2015) juga menjelaskan bahwa ekstrak melon SOD dan *gliadin* memiliki efek menguntungkan pada keadaan dengan kebutuhan tubuh yang tinggi. Bioactive antioksidan mungkin mewakili peningkatan kualitas hidup yang bermakna.

Hubungan antara kadar Hb dan HbCO juga menunjukkan hubungan yang non linear atau negatif yaitu penurunan nilai Hb seiring dengan kenaikan HbCO, begitu juga sebaliknya.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa paparan asap rokok dapat menurunkan kadar Hb dan meningkatkan kadar HbCO dalam tubuh. Pemberian antioksidan yang berasal dari ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan *gliadin* sesuai dengan dosis (250 IU/hr) dapat digunakan secara signifikan untuk menurunkan kadar HbCO dalam tubuh.

## SIMPULAN

Pemberian (*Cucumis melo*) dan gliadin selama 28 hari secara signifikan memperlihatkan pengaruh pada kenaikan kadar Hb dan penurunan kadar HbCO pada tikus wistar jantan yang diberi paparan asap rokok. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap (*Cucumis melo*) dan gliadin dengan waktu yang lebih lama untuk dapat menghambat atau meniadakan pembentukan HbCO.

Ekstrak melon (*Cucumis melo*) dan gliadin dapat diberikan pada perokok aktif maupun pasif dengan dosis 1 kali 250 IU/hari sebagai antioksidan yang berperan dalam penurunan radikal bebas dalam darah. Untuk pemerintah perlu adanya daerah kawasan bebas rokok berdasarkan efek merugikan yang ditimbulkan oleh asap rokok terhadap kesehatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abboud, R.T., Vimalanathan, S., (2008) Pathogenesis of COPD. Part I. The role of protease-antiprotease imbalance in emphysema. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12 : 361-367.
- Amin M. 2013. Pemeriksaan dan Interpretasi Faal Paru. *PKB Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi*. Surabaya : FK Unair.
- Calderon D. B, Yepiz-Plascencia, , Bøgh-Hanse N., 1996. Hydrophobic interactions between gliadin and proteins and celiac disease. *Journal of Life Sciences*. Vol.23 : 1951-1960.
- Churg, A., Cosio, M., Wright, J.L., (2008) Mechanisms of cigarette smoke-induced COPD: insights from animal models. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 294 : 612-631.
- Dean L. 2005. National Center for Biotechnology Information (NCBI), National Library of Medicine, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892-6510. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2263>. Sitasi tanggal 2 Maret 2016.
- Fassano, A., Not, T., Wang, W., Uzzau, S., Berti, I., Tommasini, A., Goldblum, S.E. 2000. Zolunin, a newly discovered modulator of in-testinal permeability, and its expression in celiac disease. *Journal of Lancet*. Vol.355 :1518-1519.
- Ganong W.F. 2003. *Buku ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Hall, E.J. 2010. *Buku Saku Fisiologi Kedokteran Guyton & Hall*. Ed.11. Jakarta : EGC.
- Harlev A., Ashok A, Sezgin O. G, Amit S. and Stefan S.P. 2015. Smoking and Male Infertility : An Evidence-Based Review. *World Journal Mens Health*. Vol.33 (3) : 143-160.
- Luchese, C., Simone P, Nogueira C.W., 2009. Brain and lungs of rats differently affected by cigarette smoke exposure : Antioxidant effect of an organoselenium compound. *Journal of Pharmacological Research*. Vol. 59 : 194-201.
- Nurliani, A., Santoso, dan Rusmiati. (2012). Efek Antioksidan Ekstrak Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Pada Gambaran Histopatologi Paru-Paru Tikus Yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Bioscientiae* Volume 9, Nomor 1, Halaman : 60-69.
- Olivia F., Alam S., Hadibroto I. 2006. *Seluk Beluk Food Supplement*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- Renard, D., Robert, P., Lavenant, L., Melcion, D., Popineau, Y., Gueguen, J., Duclairoir, C., Nakache, E., Sanchez, C., Schmitt, C. 2002. Biopolymeric colloidal carriers for encapsulation or controlled release applications. *International Journal of Pharmaceutics*. Vol.242 : 163-166
- Romao S. 2015. Therapeutic value of oral supplementation with melon superoxide dismutase and wheat gliadin combination. *Nutrition Journal*. Vol. 31 : 430-436.
- Soemirat J.D., Roosmini, Indah R.S.S., Khatarina O. (2009). *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- West, John B. (2010). *Patofisiologi Paru Esensial*. Ed.6. Jakarta : EGC.

- WHO. 2014. *Global Youth Tobacco Survey*.  
<http://www.who.int/tobacco/surveillance/guys/en>. Sitasi tanggal 24 Februari 2016.
- Whincup P., Papacosta O., Lennon L., Haines A. 2006.  
Carboxyhaemoglobin levels and their determinants in older British men. *Journal BMC Public Health*. Vol.6:189
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Cetakan ke-4. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Wirakusumah, E.S., 2006. *Buah dan Sayur Untuk Terapi*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Wolfgang D., Karl O., Wilfried R. 2014. Oxidative Stress and Free Radicals in COPD – Implications and Relevance for Treatment. *Int. Journal Chron Obstruct Pulmon Dis*. NCBI. Vol.9 : 1207 – 1224.