



**EFEK VITAMIN E TERHADAP KADAR BILIRUBIN TOTAL  
PADA TIKUS WISTAR YANG MENGALAMI  
LEUKOSITOSIS SETELAH TERPAPAR ASAP ROKOK**

*THE EFFECT OF VITAMIN E ON TOTAL BILIRUBIN LEVEL IN WISTAR  
RATS WHICH LEUKOCYTOSIS INDUCED BY CIGARETTE SMOKE*

**ARTIKEL ILMIAH**

**Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran**

**Hj. ENDAH RESSIA DEWI  
G2A007093**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA  
KEDOKTERANFAKULTAS KEDOKTERANUNIVERSITAS  
DIPONEGOROTAHUN 2011**

# EFEK VITAMIN E TERHADAP KADAR BILIRUBIN TOTAL PADA TIKUS WISTAR YANG MENGALAMI LEUKOSITOSIS SETELAH TERPAPAR ASAP ROKOK

Endah Ressia Dewi<sup>1</sup>, Andrew Johan<sup>2</sup>

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Asap rokok mengandung senyawa radikal bebas yang dapat membawa dampak negatif bagi kesehatan tubuh manusia. Radikal bebas yang berlebihan dapat menurunkan kadar bilirubin total. Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mengurangi terbentuknya radikal bebas sehingga mencegah terjadinya penurunan kadar bilirubin. Hingga kini, masih sedikit informasi mengenai peran vitamin E terhadap perokok, terkait dengan kadar bilirubin total.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *The Post Test-Only Control Group Design*. Populasi penelitian adalah tikus wistar yang dikembangkan di laboratorium Universitas Negeri Semarang, sampel dipilih secara *simple random* dibagi menjadi 2 kelompok dimana tiap kelompok terdapat 5 ekor tikus. Kelompok kontrol hanya diberi asap rokok 1 batang per hari dan kelompok perlakuan diberi asap rokok dan vitamin E 100mg/kgBB/hari. Perlakuan diberikan selama 30 hari, pada hari ke-31 dilakukan pengambilan sampel darah. Selanjutnya dihitung kadar bilirubin total.

**Hasil:** Dilakukan uji *Saphiro-Wilk*, didapatkan distribusi data tidak normal. Hasil uji non parametrik *Mann-Whitney* terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan pada kadar bilirubin total ( $p=0,043$ ).

**Simpulan:** Kadar bilirubin total tikus wistar pada kelompok perlakuan lebih tinggi secara bermakna ( $p=0,043$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol.

**Kata Kunci:** Vitamin E, kadar bilirubin total, rokok.

<sup>1</sup>Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

<sup>2</sup>Staf pengajar Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang,

**THE EFFECT OF VITAMIN E ON SERUM BILIRUBIN LEVEL IN  
WISTAR RATS WHICH LEUKOCYTOSIS INDUCED BY CIGARETTE  
SMOKE**

*Endah Ressia Dewi<sup>1</sup>, Andrew Johan<sup>2</sup>*

**ABSTRACT**

**Background:** Cigarette smoke contains free radical compound that can brings negative effects for human's health. An excessive free radicals can reduce total bilirubin levels. Vitamin E serves as antioxidants that can reduces the formation of free radicals, so it will avoid reduction of bilirubin levels. Thus far, there was lack information about the effect of vitamin E on smokers, is associated with total bilirubin levels.

**Methods:** This study is an experimental research laboratory with the approach of The Post Test Only Control Group Design. The study population was wistar rats that developed in the laboratory of the Universitas Negeri Semarang, is selected by simple random sample is divided into two groups where each group contained five rats. Control group given only one stick of cigarette smoked per day and treatment group were given cigarette smoked and vitamin E 100mg/kg/day. Treatment given for 30 days, at day 31 performed blood sampling. Then calculated the total bilirubin levels.

**Result:** Shapiro-Wilks test has done and obtained an abnormal data distribution. Non parametric test results of Mann-Whitney test found significant difference between control and treatment groups in the total bilirubin levels ( $p=0,043$ ).

**Conclusion:** Total bilirubin levels of wistar rats in the treated group was significantly higher ( $p=0,043$ ) than in the control group.

**Keyword:** Vitamin E, total bilirubin levels, smoke.

<sup>1</sup> Student of Faculty of Medicine, Diponegoro University Semarang

<sup>2</sup> Lecturer of Biochemical Department, Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang

## **PENDAHULUAN**

Rokok telah menjadi benda kecil yang paling banyak digemari. Merokok telah menjadi gaya hidup bagi banyak pria dan wanita, bahkan anak-anak dan kaum remaja. Kebiasaan merokok telah mengakibatkan banyak penyakit dari gangguan pernapasan hingga kanker.<sup>1</sup> Meski menyadari bahaya merokok, orang-orang di seluruh dunia masih terus mengisap belasan milyar batang rokok setiap harinya. Jumlah perokok di negara-negara berkembang jauh lebih banyak dibanding jumlah perokok di negara maju. Angka yang sangat memprihatinkan mengingat akibat buruk dari merokok baru akan dirasakan dalam jangka panjang. Bahkan WHO tahun 2008 telah menyebutkan bahwa angka kematian berkaitan dengan akibat asap rokok 5,4 million/tahun dapat meningkat sampai 8 million pertahun dengan jumlah perokok mencapai 1,3 billion orang pada tahun 2030 dan 70% di antaranya terjadi di negara-negara berkembang.<sup>2</sup>

Diketahui bahwa kebiasaan merokok berhubungan dengan menurunnya kadar bilirubin total, meningkatnya angka serum kolesterol, reaktivitas vasomotor koroner, agregasi platelet dan status prothrombotic.<sup>3</sup> Penurunan kadar bilirubin total berkaitan dengan peran bilirubin sebagai antioksidan, dan teroksidasi menjadi biliverdin.<sup>4</sup> Hasil penelitian terdahulu juga telah melaporkan bahwa kadar marker inflamasi (C- reactive protein/CRP, leukosit, dan fibrinogen) lebih tinggi pada perokok berat daripada mereka yang tidak pernah merokok.<sup>5</sup> Asap rokok juga akan mempengaruhi profil lemak seseorang. Dibandingkan dengan bukan perokok, kadar kolesterol total, kolesterol LDL, dan trigliserida darah perokok lebih tinggi, sedangkan kolesterol HDL lebih rendah.

Vitamin E telah banyak didokumentasikan sebagai antioksidan yang mempunyai kemampuan tinggi dalam proteksi sel terhadap radikal bebas.<sup>6</sup> Oleh

karena itu, vitamin E dapat mencegah bilirubin teroksidasi kembali menjadi biliverdin akibat paparan radikal bebas yang berlebihan sehingga tidak terjadi penurunan kadar bilirubin total.<sup>4</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian vitamin E terhadap kadar bilirubin total pada tikus wistar yang mengalami leukositosis setelah terpapar asap rokok.

## **METODE**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental secara post test only control design. Penelitian ini menggunakan 2 kelompok, yang terdiri dari satu kelompok eksperimental dan satu kelompok kontrol. Sampel penelitian adalah tikus wistar jantan dengan berat badan tikus 150-250 gram dan berusia 8 minggu. Tikus tersebut dalam kondisi tikus leukositosis (leukosit meningkat 35%).<sup>7</sup>

Data diolah dengan menggunakan program komputer. Uji normalitas data dilakukan uji Saphiro-Wilk. Data berdistribusi normal dilakukan uji T-test. Data berdistribusi tidak normal dilakukan uji Mann Whitney.

## **HASIL PENELITIAN**

Populasi sampel berupa tikus strain Wistar berusia 8 minggu dengan jumlah 14 ekor. Sampel tersebut diperoleh dari laboratorium MIPA Universitas Negeri Semarang. Pada penelitian ini populasi sampel dibagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok K1 dan K2. K1 adalah kelompok kontrol, sedangkan K2 adalah kelompok perlakuan. Jumlah tikus yang digunakan pada masing-masing kelompok adalah 7 ekor. Pembagian dilakukan dengan metode *Simple Random Sampling*. Jumlah sampel tersebut telah memenuhi ketentuan WHO, yakni minimal 5 ekor tikus tiap kelompok.

Pada mulanya dilakukan pengukuran jumlah total leukosit masing-masing tikus. Setelah dilakukan pengukuran tersebut, tikus diadaptasi selama 1 minggu di laboratorium dengan diberikan pakan pelet 511 dan minum air PDAM ad limitum. Kemudian seluruh sampel diberikan perlakuan berupa pemaparan asap rokok sebanyak 1 batang per hari yang diberikan selama 2 minggu. Jumlah total leukosit diukur kembali untuk mengetahui bahwa sudah terjadi leukositosis. Selanjutnya tikus yang sudah dibagi ke dalam 2 kelompok akan diberikan perlakuan. Kelompok K1 hanya diberikan asap rokok sedangkan kelompok K2 diberikan asap rokok dan vitamin E dengan dosis 100 mg/kgBB/hari selama 1 bulan.

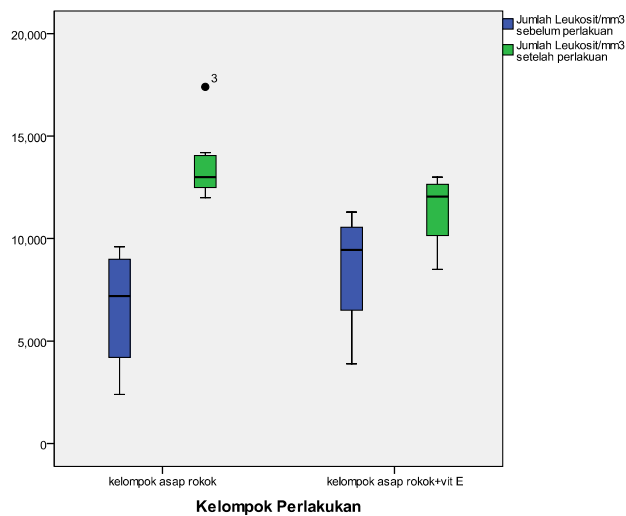
Selama masa penelitian terdapat 4 ekor tikus wistar yang mati (*drop out*). Namun, tidak didapatkan masalah dalam pengukuran, komplikasi, maupun efek samping yang berarti.

Berdasarkan analisis pemeriksaan jumlah leukosit sebelum pemberian asap rokok (pre) dan setelah pemberian asap rokok (post) diperoleh data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) berdasarkan uji normalitas *Saphiro-wilk*, yaitu kelompok pre didapatkan  $p = 0,153$  dan kelompok post  $p = 0,190$ .

Tabel 1. Hasil Uji Statistik Jumlah Total Leukosit Sebelum dan Setelah Pemberian Asap Rokok

Kelompok	Rerata ± standart deviasi	Uji normalitas ( <i>Saphiro-wilk</i> )
Pre	7245.46 ± 3030.63	0,153
Post	12827.28 ± 2127.95	0.190

Tabel diatas menunjukkan nilai rerata jumlah total leukosit setelah pemberian asap rokok lebih tinggi dibandingkan sebelum pemberian asap rokok.



Boxplot Jumlah Total Leukosit Sebelum dan Setelah Perlakuan

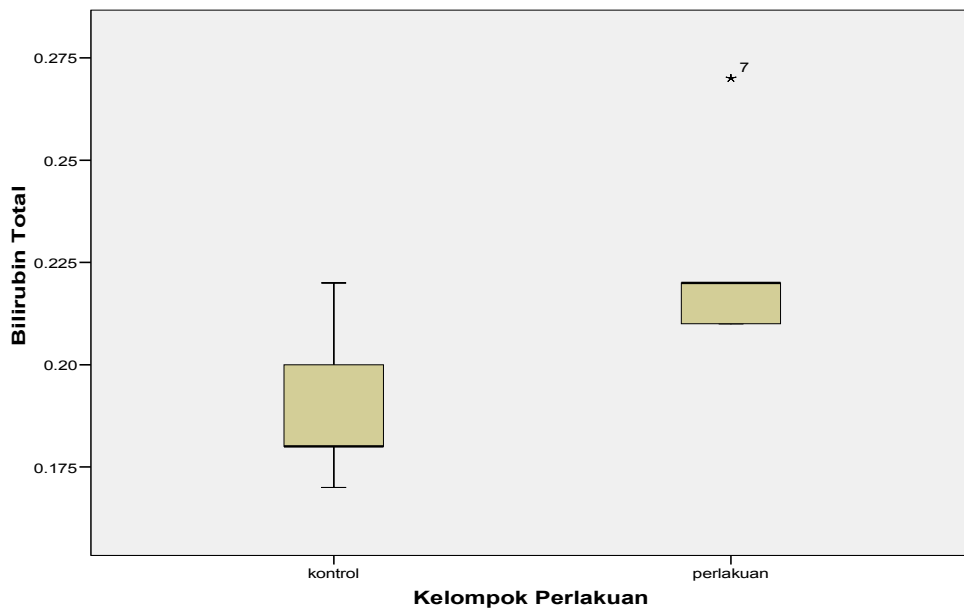
Hasil uji parametrik *Paired T-test* diperoleh nilai  $p=0,001$  sehingga dapat disimpulkan terdapat peningkatan jumlah total leukosit yang bermakna ( $p<0,05$ ) setelah pemberian asap rokok.

Uji normalitas terhadap data post-test dengan uji Saphiro-Wilk diperoleh hasil data terdistribusi tidak normal ( $p<0,05$ ) untuk kadar bilirubin total, yaitu untuk kelompok K1 didapatkan  $p=0,440$ , dan kelompok K2 didapatkan  $p=0,012$ . Oleh karena itu, dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji Mann-Whitney.

Tabel 2. Hasil Uji Statistik Jumlah Bilirubin Total

Kelompok	Median	Minimum	Maximum	Uji Normalitas (Saphiro Wilk)
K1	0,1800	0,17	0,22	0,440
K2	0,2200	0,21	0,27	0,012

Tabel diatas menunjukkan nilai *median*, *minimum*, dan *maximum* kadar bilirubin total kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.



Boxplot Kadar Bilirubin Total

Uji non parametrik Mann-Whitney menghasilkan  $p=0,043$  yang berarti terdapat perbedaan bermakna ( $p<0.05$ ) kadar bilirubin total antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dengan pendekatan *The Post Test-Only Control Group Design* yaitu dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi tindakan Data dari penelitian ini



memperlihatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan didapatkan kadar bilirubin total lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pascale GA Van Hoydonck, Elisabeth HM Temme, Evert G Schouten menyebutkan bahwa merokok akan menurunkan konsentrasi bilirubin serum pada pria.<sup>8</sup> Hal ini dapat dijadikan referensi bahwa kadar bilirubin akan menurun apabila diberikan paparan asap rokok.

Asap rokok mengandung molekul oksidan dalam jumlah besar yang memicu terjadinya stress oksidatif. Hal ini disebabkan karena sejumlah radikal bebas akan menimbulkan peroksidasi dari asam lemak ganda tak jenuh pada membran sel.<sup>9</sup> Paparan radikal bebas yang berlebihan tersebut dapat mengoksidasi bilirubin yang berfungsi sebagai antioksidan endogen tubuh.<sup>4</sup> Hal ini mengakibatkan penurunan kadar bilirubin total.

Penelitian mengenai pengaruh asap rokok terhadap konsentrasi bilirubin dan profil hematologi sebelumnya pernah dilakukan. Namun, belum ada penelitian sebelumnya yang membahas mengenai efek vitamin E terhadap kadar bilirubin total. Vitamin E merupakan salah satu zat organik kompleks yang dibutuhkan tubuh dan pada umumnya tidak dapat dibentuk oleh tubuh.<sup>6</sup> Oleh karena itu, harus didatangkan dari luar tubuh melalui makanan dan minuman. Vitamin E memiliki fungsi utama sebagai antioksidan larut lemak di dalam membran sel. Aktivitas vitamin E sebagai antioksidan dapat dibuktikan dengan adanya perpindahan hidrogen dari gugus hidroksil (OH) pada struktur cincin ke radikal bebas yang mengakibatkan senyawa radikal bebas tersebut menjadi tidak reaktif.<sup>6</sup>

Terdapat hubungan yang sangat erat antara aktivitas antioksidan vitamin E dan selenium melalui glutathionperoksidase pada sistem pertahanan antioksidan. Selain itu, diduga terjadi regenerasi dengan bantuan vitamin C atau

reduktase lain yang mereduksi radikal vitamin E kembali ke bentuk aslinya karena konsentrasi vitamin E sangat kecil yaitu 1 molekul per 2000-3000 molekul fosfolipida.<sup>6</sup>

Perbandingan data antara kelompok kontrol yang diberi paparan asap rokok 1 batang per hari tanpa vitamin E dan kelompok perlakuan yang diberikan paparan asap rokok 1 batang per hari dan vitamin E dengan dosis 100 mg/kgBB/hari ( $p=0,043$ ) menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p<0,05$ ). Hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis vitamin E yang diberikan (100 mg/kgBB/hari) adalah dosis yang cukup efektif.<sup>10-11</sup> Hal tersebut juga sesuai dengan hipotesis bahwa kadar bilirubin total pada kelompok yang diberi vitamin E lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberi vitamin E.

Radikal bebas menyebabkan bilirubin akan mudah teroksidasi kembali menjadi biliverdin pada siklus oksidasi-reduksi sehingga kadar bilirubin total akan berkurang. Sebagai antioksidan kuat, vitamin E dapat mencegah teroksidasinya bilirubin tersebut. Vitamin E berperan dalam meningkatkan Glutathione (GSH) sehingga NADPH juga akan meningkat. Peningkatan NADPH mengakibatkan enzim biliverdin reductase dapat berfungsi aktif mereduksi biliverdin menjadi bilirubin. Oleh karena itu, vitamin E dapat mencegah terjadinya penurunan kadar bilirubin total.<sup>4</sup>

## **SIMPULAN**

Berdasarkan penyajian data dan pembahasan pada bab sebelumnya, maka dari penelitian ini dapat diambil kesimpulan yaitu kadar bilirubin total pada tikus wistar yang mengalami leukositosis setelah terpapar asap rokok dan diberi vitamin E lebih tinggi secara bermakna ( $p=0,043$ ) dibandingkan dengan yang tidak diberikan vitamin E.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Skurnik Y, Shoenfeld Y. Health effects of cigarette smoking. *Clin Dermatol*. 1998;16:545-56.
2. World Health Organization (WHO): The WHO report on the global tobacco epidemic, The MPOWER package. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2008.
3. Muscat JE, Harris RE, Haley NJ, Wynder EL, Hung J, Lam JY, et al. Cigarette smoking and plasma cholesterol. *Am Heart J*. 1991;121:141-7. [PMID: 1985356].
4. Sedlak TW, Snyder SH. Bilirubin Benefits : Cellular Protection by a Biliverdin Reductase Antioxidants Cycle. *Pediatrics*. 2004;113(6):1776 – 82.
5. Wannamethee G, Gordon DO, Gerald SA. Association between cigarette smoking, pipe/cigar smoking, and smoking cessation, and haemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2005; 26:1765-1773
6. Almtsier S. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Cetakan 2. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama; 2001.
7. Mitruka BM, Rawnsby. *Clinical Biochemical and Hemotological Reference Value in Normal Animal and Humans*, 2<sup>nd</sup> edition. Chicago: Medical Publisher; 1987.
8. Hoydonck PGAV, Temme EHM, Schouten EG. Serum Bilirubin Concentration in a Belgian Population : the association with smoking status and type of cigarettes. *International Epidemiological Association*. 2001;30:1465-1472.
9. Rumley AG, Woodward M, Rumley A. Plasma lipid peroxides: relationships to cardiovascular risk factors and prevalent cardiovascular disease. *QJM* 2004; 97:809–616.

10. Tao YY, Wang QL, Yan JL, Shen L, Liu CH. Effects of vitamin E on mercuric chloride induced renal interstitial fibrosis in rats and the antioxidative mechanism. *Zhong xi yie jie he xue bao*. 2011;9:201-8.
  
11. Soudani N, Troudi A, Bouaziz H, Boudawara T, Zeghal NS. Antioxidant effect of vitamin E and selenium in hepatotoxicity in induced by dimethoate in female adult rats. *Ecotoxicol environ saf*.2010.