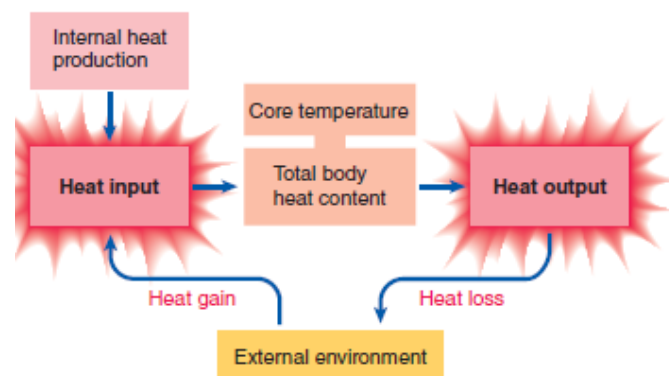


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Termoregulasi

Termoregulasi adalah kemampuan sistem otonomi saraf tubuh yang vital untuk berespon terhadap dingin dan *heat stress*. Suhu tubuh memiliki 2 komponen yaitu suhu inti tubuh dan suhu perifer tubuh. Suhu inti tubuh diukur dari suhu trunkus dan kepala, sedangkan suhu perifer tubuh diukur dari suhu ekstremitas. Suhu inti tubuh cenderung lebih stabil dan dalam kondisi lingkungan moderat suhu perifer lebih rendah 2-4 derajat dibanding suhu inti tubuh.¹⁶ Termoregulasi bekerja dengan menjaga suhu inti tubuh dalam jarak 1-2 derajat dari 37°C untuk menjaga sel berfungsi dengan normal. Panas diproduksi dan dihilangkan dari tubuh supaya tubuh tetap berada dalam keadaan normotermia.²



Gambar 1. Termoregulasi tubuh

Dikutip dari *Introduction to Human Physiology* karangan Lauralee Sherwood¹⁷

Suhu inti tubuh merupakan cerminan dari total keseluruhan panas dalam tubuh. Masukan panas harus seimbang dengan keluaran panas untuk menjaga suhu inti tubuh tetap seimbang. Masukan panas berasal dari lingkungan eksternal dan produksi panas internal. Pada kondisi normal, lebih banyak energi panas dari yang dibutuhkan tubuh sehingga tubuh memiliki mekanisme keluaran panas untuk menjaga suhu inti tubuh tetap terjaga.¹⁷

2.2 Heat stress

2.2.1 Definisi heat stress

Heat stress adalah hilangnya kemampuan termoregulator tubuh untuk mengeliminasi panas. Hilangnya kemampuan tersebut terjadi pada suhu 38-39°C. Saat *heat stress* terjadi, suhu inti tubuh mulai mengalami peningkatan dan berdampak pada proses fisiologis tubuh.³

Kondisi peningkatan suhu inti tubuh erat hubungannya dengan peningkatan kadar ROS tubuh. ROS yang meningkat antara lain anion superoksida, hidrogen peroksida, radikal hidroksil, nitrat oksida, dan perioksinitrit.¹⁸

2.2.2 Epidemiologi

Setiap tahunnya di Amerika Serikat, jutaan pekerja mengalami cedera dan 4000-6500 pekerja meninggal akibat pekerjaan. Pada tahun 1997 sampai 2006, didapatkan total 54.893 pasien yang mendapatkan penanganan di instalasi gawat darurat (IGD) Amerika Serikat akibat cedera yang berhubungan dengan panas. Jumlah pasien meningkat secara signifikan dari 3.192 pasien pada tahun 1997 menjadi 7.452 pasien pada 2006.

Pasien berusia kurang dari sama dengan 19 tahun menyumbang proporsi terbanyak dengan persentase 47,6%. Mayoritas kasus yang terjadi berhubungan dengan olah raga atau latihan sebanyak 75,5% dan pekerjaan lapangan sebanyak 11%.¹⁹

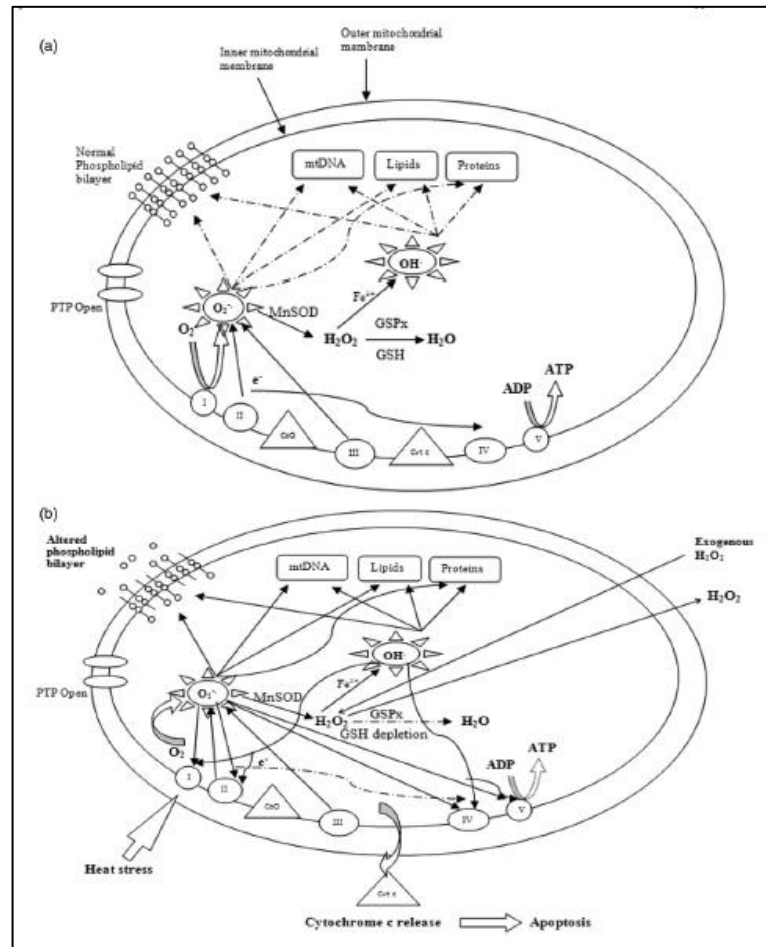
2.2.3 Patofisiologi

Pada kondisi *heat stress*, terjadi perubahan-perubahan fisiologis tubuh. Perubahan yang berhubungan dengan stres oksidatif adalah terjadinya disfungsi dari mitokondria. Secara fisiologis, mitokondria akan mencoba mengimbangi situasi *heat stress* tersebut dengan meningkatkan substrat oksidasi dan aktivitas rantai transpor elektron, hal inilah yang menyebabkan terjadinya produksi superoksida yang berlebihan. Produksi yang berlebihan tersebut dapat terjadi karena pada rantai transpor elektron, anion superoksida merupakan hasil sampingan dari direduksinya satu elektron dari oksigen.^{8, 20}

Anion superoksida mitokondria merupakan prekursor dari kebanyakan ROS dan merupakan suatu mediator di dalam reaksi rantai oksidatif. Anion superoksida memiliki sifat yang sangat reaktif dan tidak mudah masuk melalui membran sel.^{8,}

20

Heat stress menurunkan kadar *superoxide dismutase 1* (SOD-1) mRNA, protein SOD sitoplasma dan aktivitas enzim, yang mengarah kepada peningkatan kadar ROS.¹⁸ Implikasi lebih lanjut dari peningkatan kadar ROS dan peningkatan sensitivitas pada hipertermia adalah penurunan kadar GSH secara signifikan.⁸



Gambar 2. Mitokondria pada keadaan normal dan *heat stress*

Dikutip dari *Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review*. Karangan Belhadj Slimen, Imen et al.⁸

2.2.4 Pencegahan

Pencegahan dapat dilakukan melalui intervensi publik dan pribadi. Intervensi publik dapat dilakukan dengan cara melakukan edukasi kepada publik mengenai gejala dari *heat stress*. Hal yang selanjutnya dapat dilakukan adalah menginformasikan masyarakat mengenai adanya kemungkinan cuaca ekstrim sehingga masyarakat dapat bersiap atau tidak melakukan aktivitas di luar pada saat itu.²¹

Pencegahan yang dapat dilakukan sebagai individual adalah pertama-tama mengenakan pakaian yang ringan, berwarna terang, tidak terlalu ketat, dan menggunakan topi. Penggunaan *sunscreen* dengan SPF 30 atau lebih juga masih direkomendasikan sebagai salah satu cara pencegahan *heat stress*. Hal yang selanjutnya dapat dilakukan adalah menjaga diri agar tetap terhidrasi dan hindari minuman dengan kafein dan alkohol.²²

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas bisa didefinisikan sebagai spesies molekular apapun yang memiliki kemampuan untuk bertahan dengan sebuah elektron tak berpasangan di orbit atomnya. Keberadaan elektron tak berpasangan ini membuat radikal bebas tidak stabil dan sangat reaktif sehingga radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya baik untuk mengambil elektron atau mendonasikan elektron. Salah satu jenis spesies yang termasuk radikal bebas adalah ROS atau spesies oksigen reaktif. Radikal hidroksil, radikal anion superoksida, hidrogen peroksida, dan oksigen singlet merupakan beberapa contoh molekul yang termasuk ROS.²³

2.3.1 Mekanisme terbentuknya radikal bebas

Rantai transpor elektron dalam bekerja dibantu oleh karier khusus seperti ubiquinon dan sitokrom untuk mengangkut elektron tunggal dan tak berpasangan dengan aman dalam berbagai kompleks multiproteinnya. Sesekali zat reaktif ini bisa lolos ke dalam sel dalam bentuk ROS, seperti superoksida dan hidrogen peroksida.²⁴

ROS merupakan produk normal dari metabolisme yang melibatkan konsumsi oksigen di dalam tubuh. ROS bersifat menguntungkan tubuh dalam

konsentrasi rendah dan sedang karena berfungsi sebagai bantuan bagi mekanisme pertahanan tubuh. Ketika terjadi rangsangan yang meningkatkan jumlah ROS, keseimbangan ROS dan antioksidan mulai tidak seimbang karena antioksidan tidak dapat lagi mengkompensasi peningkatan ROS. Hal ini menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan pada sel terutama pada lemak, protein, dan asam nukleat.²⁵

2.3.2 Asal dari radikal bebas

ROS bersumber dari reaksi metabolisme normal tubuh dan dari faktor eksternal. Radikal bebas yang dibentuk dari dalam tubuh berasal dari mitokondria, xantin oksidase, peroksisom, inflamasi, fagositosis, jalur arakidonat, latihan, iskemia. Radikal bebas yang terbentuk berasal dari luar tubuh disebabkan oleh merokok, polusi lingkungan, radiasi, obat-obatan dan pestisida, dan ozon.²⁶

2.4 Antioksidan

2.4.1 Definisi antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan menetralisasi radikal bebas. Antioksidan yang dimiliki tubuh untuk mencegah terjadinya dampak-dampak berbahaya dari radikal bebas antara lain: superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase, glutathion reduktase, tioredoksin, thiol, dan ikatan disulfida.¹¹

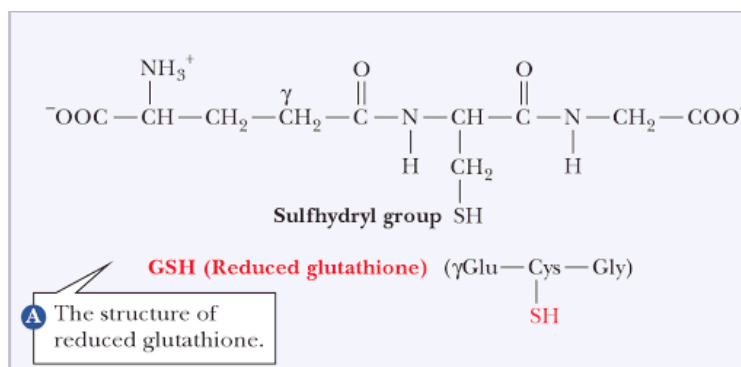
2.4.2 Klasifikasi antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerja antioksidan, dapat diklasifikasikan sebagai berikut:²⁷

1. Sistem pertahanan antioksidan primer. Sistem ini mengalami kontak langsung dengan ROS dan mengeliminasi, termasuk vitamin (A, E, C), GSH, asam urat, dan juga enzim yang memanfaatkan ROS seperti SOD dan peroksidase.
2. Sistem pertahanan antioksidan sekunder. Sistem ini menyediakan perbaikan kepada molekul yang berperan penting secara fisiologis akibat kerusakan yang disebabkan oleh ROS. Enzim yang melakukan katabolisme seperti lipase, protease dan peptidase, dan enzim yang melakukan reparasi DNA termasuk dalam sistem ini.

2.5 GSH

Glutation (GSH) adalah sebuah antioksidan tripeptida yang memiliki struktur kimia L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine. GSH memiliki kelompok thiol aktif dalam bentuk sisa sistein, yang bertindak sebagai antioksidan baik secara langsung bereaksi dengan ROS/*Reactive Nitrogen Species* (RNS) dan elektrofil atau beroperasi sebagai kofaktor dari beberapa enzim. Di dalam suasana intraselular, glutathion termasuk senyawa yang cukup stabil. Bentuk tereduksi glutathion dan glutathion disulfida (GSSG) bertindak beriringan dengan senyawa aktif redoks lainnya dalam meregulasi dan menjaga status redoks selular.²⁸



Gambar 3. Struktur kimia Glutation

Dikutip dari *Biochemistry* karangan Mary K. Campbell dan Shawn O. Farrel²⁹

2.5.1 Sintesis GSH

GSH disintesis di sitosol dari L-glutamat, L-sistein, dan glisin melalui 2 langkah yang berurutan yaitu dikatalisasi oleh γ -glutamyl-sistein sintase dan glutathion sintase. Degradasi menjadi unsur asam amino terjadi via γ -glutamyl-transpeptidase dan sistenil-glisin dipeptidase. GSH setelah diproduksi di sitosol akan didistribusikan ke organel-organel intraselular termasuk retikulum endoplasma, nukleus, dan mitokondria. GSH dapat dengan mudah melalui membran luar dari mitokondria, tetapi untuk melewati membran dalam mitokondria, GSH membutuhkan karier yaitu karier dikarboksilat dan karier 2-oksoglutarat.^{28,30}

2.5.2 Fungsi GSH

Fungsi GSH pada fase II detoksifikasi, berpengaruh terhadap modifikasi yang sekuensial, ekskresi bilier, dan transpor antar organ untuk ekskresi final ginjal. Sekali GSH disintesis, GSH bisa menembus membran biologis, secara khusus menembus membran plasma, untuk menjadi bagian dari jaringan transpor

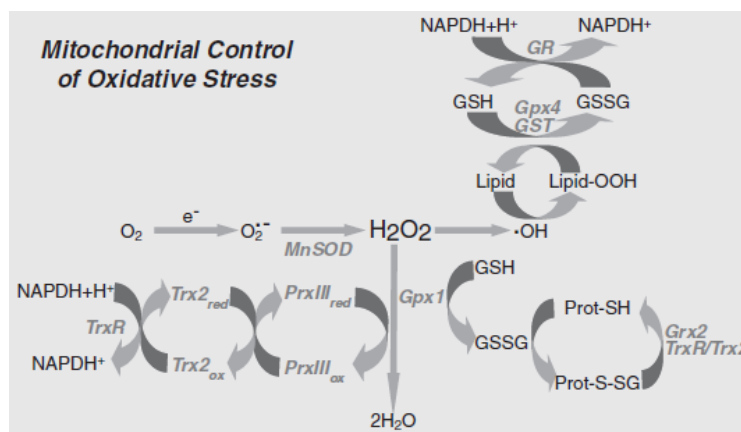
interorgan yang rumit. Hal ini juga termasuk pengeluaran GSH dari hepar yang menjadi sumber utama sintesis, menuju peredaran darah untuk memasok bagi jaringan lain, sama seperti pengeluaran GSSG yang mengikuti transpor menembus membran kanalikuli untuk diekskresikan lewat bilier.³⁰

2.5.3 GSH dalam kondisi stres oksidatif

Rantai transpor elektron merupakan sumber dari ROS terutama anion superoksida. Tubuh memiliki mekanisme fisiologis untuk mencegah terjadinya perusakan sel oleh superoksida. *Superoxide dismutase* (SOD) pada matriks mitokondria mengubah anion superoksida menjadi hidrogen peroksida yang masih merupakan oksidan.³⁰

Hidrogen peroksida akan direduksi oleh katalase, namun pada mitokondria yang mereduksi hidrogen peroksida adalah GSH karena mitokondria kekurangan katalase. Hidrogen peroksida akan direduksi oleh GSH menjadi air bersamaan dengan terbentuknya glutathion teroksidasi (GSSG). GSH juga dapat berperan sebagai kofaktor pada reduksi peroksida oleh glutathion peroksidase yang dihasilkan oleh anion superoksida.¹⁰

ROS segera diseimbangkan oleh sistem antioksidan pada kondisi sel yang tidak mengalami *heat stress*. GSH menjadi salah satu antioksidan yang memiliki peranan penting dalam mekanisme pertahanan. Peningkatan ROS terjadi akibat timbulnya stres oksidatif pada sel yang mengalami *heat stress*.³¹



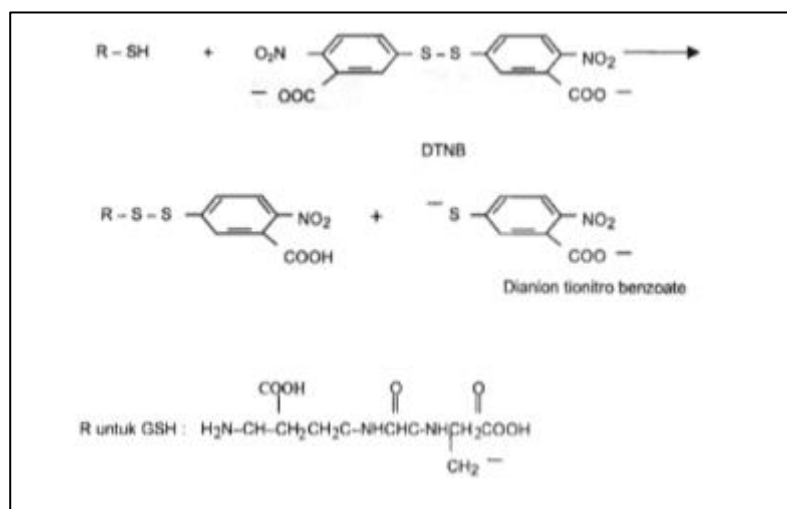
Gambar 4. Kontrol mitokondria pada stres oksidatif

Dikutip dari *Mitochondrial Gluthathione, a Key Survival Antioxidant* karangan L. Munoz, C. Janko, C.Schorner et al.³⁰

Peningkatan kadar ROS tidak hanya membutuhkan peningkatan aksi dari GSH untuk menjaga status redoks, tapi juga meningkatkan konsumsi energi dan material untuk menggantikan GSH yang terpakai dan/atau mentransportnya ke tempat dimana GSH dibutuhkan.²⁸

2.5.4 Pengukuran kadar GSH (metode DTNB)

Pengukuran kadar glutathion darah dapat menggunakan metode ditio bisnitro benzoat (DTNB). Prinsip pengukurannya adalah reaksi antara ditio DTNB dengan GSH akan menghasilkan senyawa DTNB berwarna kuning dan diukur pada panjang gelombang 412 nm.^{32,33}



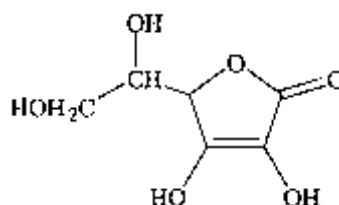
Gambar 5. Reaksi DTNB dengan GSH

Dikutip dari Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) : Pengukuran Kadar Glutation Tikus Diabetes karangan Lucie Widowati et al.³³

2.6 Vitamin C

2.6.1 Definisi dan rumus kimia

Vitamin C atau juga dikenal sebagai asam askorbat dengan rumus kimia $C_6H_8O_6$ adalah sebuah lakton (siklik ester yang merupakan produk kondensasi dari alkohol dan asam karboksilat dalam senyawa yang sama) karbon rantai enam. Vitamin C termasuk vitamin yang larut dalam air. Manusia tidak bisa mensintesis sendiri vitamin C, untuk itu manusia membutuhkan asupan vitamin C.³⁴



Gambar 6. Struktur kimia dari vitamin C

Dikutip dari *Ascorbic Acid PubChem*.
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ascorbic_acid#section=Top

2.6.2 Farmakodinamik dan farmakokinetik vitamin C

Farmakodinamik pemberian vitamin C pada keadaan normal tidak menunjukkan efek yang jelas. Efek pemberian vitamin C baru dapat diketahui pada keadaan defisiensi dimana vitamin C dapat menghilangkan gejala dengan cepat.³⁵

Pada farmakokinetik vitamin C, didapatkan bahwa vitamin C mudah diabsorpsi melalui saluran cerna. Vitamin C dapat langsung terlihat kenaikan kadarnya dalam darah setelah 0,5 jam pemberian per oral.¹³ Kadar asam askorbat dalam leukosit dan trombosit lebih besar dibanding dalam plasma dan eritrosit. Distribusi vitamin C luas ke seluruh tubuh dengan kadar terendah pada otot dan jaringan lemak, dan tertinggi pada kelenjar. Ekskresi vitamin C melalui urin dalam bentuk utuh. Jika kadar dalam darah melewati ambang rangsang ginjal 1,4 mg%, ekskresinya dalam bentuk garam sulfatnya.³⁵

2.6.3 Efek samping vitamin C

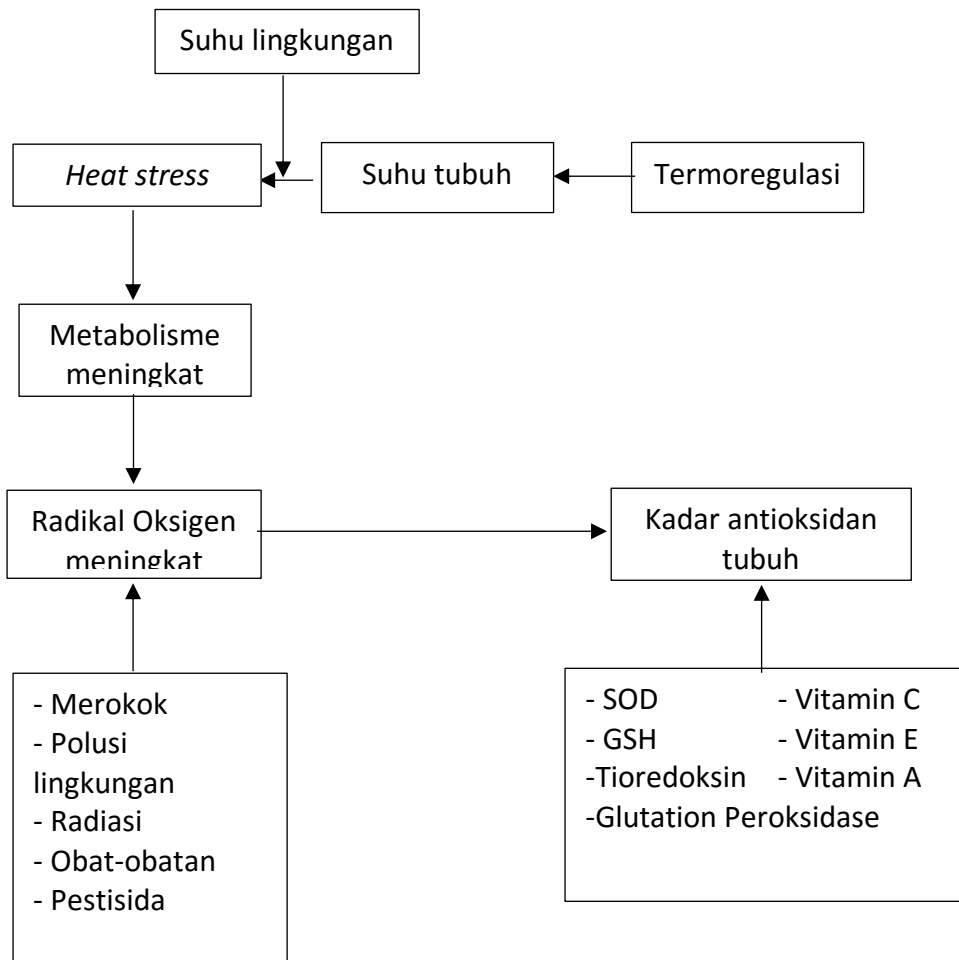
Efek samping vitamin C dapat terlihat ketika dikonsumsi lebih dari 1 g/hari. Efek samping yang dapat dijumpai salah satunya adalah diare dikarenakan adanya iritasi pada mukosa usus, sehingga terjadi peningkatan peristaltik. Vitamin C meningkatkan absorpsi besi, sehingga dalam dosis besar dapat berbahaya pada pasien hemokromatosis, talasemia, dan anemia sideroblastik.³⁵

2.6.4 Vitamin C sebagai antioksidan

Vitamin C bekerja sebagai suatu koenzim dan pada keadaan tertentu merupakan agen pereduksi dan antioksidan karena bisa mendonorkan elektron. Asam askorbat dapat secara langsung atau tidak langsung memberikan elektron ke

enzim yang membutuhkan ion-ion logam tereduksi dan bekerja sebagai kofaktor untuk profil dan lisil hidroksilase pada biosintesis kolagen. Asam askorbat mendonasikan 2 elektron dari sebuah rantai ganda antara karbon kedua dan ketiga dari molekul 6 karbon. Asam askorbat disebut sebagai antioksidan karena kemampuannya mendonasikan elektron mencegah senyawa lain untuk teroksidasi.^{35,36}

2.7 Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

2.9.1 Hipotesis Mayor

Terdapat pengaruh pemberian vitamin C untuk mencegah penurunan kadar antioksidan tikus Sprague Dawley yang terpapar *heat stress*.

2.9.2 Hipotesis Minor

Hipotesis minor pada penelitian ini adalah:

1. Kadar GSH lebih rendah pada tikus yang terpapar *heat stress* daripada tikus Sprague Dawley yang tidak terpapar.
2. Kadar GSH lebih tinggi pada tikus Sprague Dawley yang terpapar *heat stress* yang diberi vitamin C dibandingkan dengan yang tidak diberi.