

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Lansia**

##### **2.1.1 Definisi lansia**

Dalam Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2004 dan Undang Undang-Undang No 13 Tahun 1998 tentang kesejahteraan lansia dijelaskan bahwa lanjut usia adalah seseorang yang telah mencapai usia 60 (enam puluh) tahun ke atas.<sup>1</sup>

##### **2.1.2 Fisiologi lansia**

Penuaan secara umum dapat didefinisikan sebagai kemunduran progresif efisiensi biokimia dan proses fisiologis setelah fase reproduksi kehidupan. Kontribusi radikal bebas terhadap proses penuaan terjadi sejak awal kehidupan yang makin meningkat seiring pertambahan usia. Paparan pada tingkat sel ataupun jaringan tubuh sejak awal kehidupan ditambah dengan reaksi metabolik pada usia dewasa hingga lanjut usia berhubungan dengan terjadinya penyakit-penyakit terkait usia lanjut seperti penyakit kardiovaskuler, kanker, penyakit neurodegeneratif, atau diabetes.<sup>4</sup>

Penuaan merupakan proses multifaktorial. Sebagian besar hipotesis mengenai mekanisme dasar proses penuaan adalah perubahan homeostasis metabolik, inflamasi, dan/ atau proses redoks pada sel dan jaringan. Teori stres oksidatif atau radikal bebas merujuk peningkatan ROS sebagai proses utama penuaan sel.<sup>4</sup>

Radikal bebas bertanggung jawab terhadap kerusakan tingkat sel dan jaringan terkait usia. Pada kondisi normal, terjadi keseimbangan antara oksidan, antioksidan, dan biomolekul. Radikal bebas yang berlebih menyebabkan antioksidan seluler natural kewalahan, memicu oksidasi, dan berkontribusi terhadap kerusakan fungsional seluler. Radikal bebas merupakan penyebab utama terkait proses penuaan, dianggap sebagai satu-satunya proses utama, dimodifikasi oleh genetik dan faktor lingkungan. Radikal bebas oksigen bertanggungjawab (karena reaktivitasnya tinggi) terhadap kerusakan tingkat sel dan jaringan terkait usia. Akumulasi radikal oksigen pada sel dan modifikasi oksidatif molekul biologi (lipid, protein, dan asam nukleat) berperan pada penuaan dan kematian sel.<sup>4</sup>

## **2.2 Stress Oksidatif**

Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan biokimia yang disebabkan oleh produksi *free radical* (FR) dan spesies oksigen reaktif yang berlebihan (ROS), yang memicu kerusakan oksidatif pada biomolekul dan tidak dapat ditangkal oleh sistem antioksidan. Perubahan biokimia ini telah dikaitkan dengan penuaan dan lebih dari 100 penyakit degeneratif kronis, di antaranya osteoporosis ditemukan.<sup>10</sup>

Radikal bebas bertanggung jawab terhadap kerusakan tingkat sel dan jaringan terkait usia. Pada kondisi normal, terjadi keseimbangan antara oksidan, antioksidan, dan biomolekul. Radikal bebas yang berlebih menyebabkan antioksidan seluler natural kewalahan, memicu oksidasi,

dan berkontribusi terhadap kerusakan fungsional seluler. Radikal bebas merupakan penyebab utama terkait proses penuaan, dianggap sebagai satu-satunya proses utama, dimodifikasi oleh genetik dan faktor lingkungan. Oksigen radikal bebas bertanggungjawab (karena reaktivitasnya tinggi) terhadap kerusakan tingkat sel dan jaringan terkait usia. Akumulasi radikal oksigen pada sel dan modifikasi oksidatif molekul biologi (lipid, protein, dan asam nukleat) berperan pada penuaan dan kematian sel.<sup>11</sup>

### **2.2.1 Radikal bebas**

Teori radikal bebas menyebutkan mitokondria bertanggung jawab atas kebanyakan reaksi radikal bebas dalam sel sel. Mitokondria menghasilkan radikal bebas secara terus menerus sepanjang hidup manusia. Komponen dalam sel tersebut menggunakan oksigen untuk menghasilkan energy dan secara otomatis terlibat dalam menghasilkan radikal bebas spesies oksigen, *reactive oxygen species (ROS)*.

ROS dihasilkan apabila radikal bebas yang dihasilkan dari aktivitas tubuh, terpapar dengan molekul oksidan dari lingkungan (polusi, radiasi), nutrisi atau keadaan patologis. ROS ( $H_2O$ ,  $O_2$ ,  $OH$ ) dapat mengubah DNA, protein dan membran fosfolipid. Reaktifitas dari setiap radikal bebas bervariasi namun dapat menyebabkan kerusakan yang parah pada molekul-molekul biologis, terutama DNA, protein, dan lemak.<sup>12</sup>

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul yang berisi elektron tidak berpasangan dalam orbital atom. Kehadiran sebuah elektron tidak berpasangan menyebabkan sifat umum tertentu yang dimiliki oleh

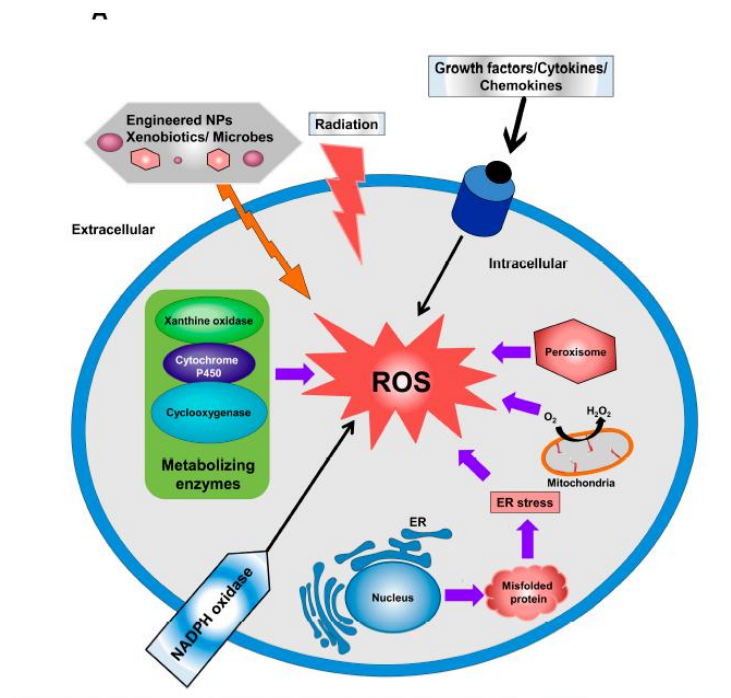
kebanyakan radikal. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas dapat menyumbangkan elektron atau menerima elektron dari molekul lain, oleh karena itu berperan sebagai oksidan atau reduktan.<sup>13</sup>

ROS merupakan representasi kategori molekul yang luas yang merupakan derivat oksigen radikal dan nonradikal. Derivat oksigen radikal meliputi ion OH, superoksida, *nitric oxide*, dan *peroxyl*. Sedangkan derivat oksigen yang nonradikal meliputi ozon, oksigen, lipid peroksida, dan hidrogen peroksida. Derivat oksigen nonradikal selanjutnya akan mengambil bagian dalam kaskade reaksi yang menghasilkan radikal bebas.<sup>14-16</sup> Selain derivat oksigen, radikal bebas juga dapat berasal dari derivat nitrogen seperti *nitric oxide*, peroksi nitrit, dan ion nitroksil yang juga merupakan subkelas dari ROS. Berbagai macam ROS tersebut dapat bersumber dari dalam tubuh (intrinsik) atau dari luar tubuh (ekstrinsik).

Radiasi sinar rontgen maupun sinar ultraviolet merupakan sumber pembentukan ROS yang cukup penting, mengingat kedua sinar tersebut dapat melisiskan air menjadi radikal OH. Selain itu, ion logam seperti  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  dan  $Cu^{+}$  juga dapat bereaksi dengan oksigen atau hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), menghasilkan radikal.OH.<sup>16,17</sup> *Nitric oksida*, suatu senyawa yang penting untuk relaksasi pembuluh darah, selain merupakan senyawa radikal bebas, juga dapat bereaksi dengan superoksida menghasilkan peroksi nitrit, yang kemudian dapat membentuk radikal OH.<sup>17</sup> Sumber ROS yang lain berasal dari *respiratory burst* dari makrofag

yang teraktifkan. Aktivasi makrofag ini menyebabkan peningkatan penggunaan glukosa melalui lintasan pentosa fosfat yang dipakai untuk mereduksi NADP menjadi NADPH, dan peningkatan penggunaan oksigen yang dipakai untuk mengoksidasi NADPH guna menghasilkan superoksida dan halogen radikal sebagai agen yang sitotoksik untuk membunuh mikroorganisme yang telah difagosit.<sup>16,17</sup>

Oksidasi terhadap koenzim flavin tereduksi di dalam mitokondria dan rangkaian transport elektron dalam mikrosom berlangsung melalui serangkaian langkah, dimana radikal flavin semiquanon distabilkan oleh protein pengikat, dan membentuk radikal oksigen (superoksida) sebagai hasil sementara atau sampingan. Meskipun hasil akhirnya bukanlah radikal bebas, namun akibat dari sifat radikal yang tidak dapat diprediksi, diperkirakan terdapat kebocoran radikal bebas, sebanyak 3-5% dari 30 mol oksigen yang dikonsumsi setiap hari atau sebanyak 1.5 mol ROS.<sup>16,18</sup> Pembentukan ROS di dalam mitokondria selain oleh kebocoran elektron kronis dari rantai pernafasan normal, juga dipicu oleh *respiratory burst* intra *mitochondrial*, *cytoplasma*, maupun ROS yang berasal dari luar. Di dalam mitokondria superoksida dikonversi menjadi hidrogen peroksida yang dapat menyebar dan kemudian dikonversi menjadi radikal OH yang bersifat *mutagenic*. Oleh karena itu, produksi ROS dalam mitokondria menjadi hal penting dalam berbagai patogenesis penyakit. (gambar 1)<sup>19</sup>



Gambar 1. Pembentukan ROS<sup>19</sup>

### 2.2.2 Malondialdehid (MDA)

MDA merupakan produk peroksidasi lipid yang merupakan aldehid reaktif, dan merupakan spesies elektrofil reaktif yang menyebabkan stress toksik pada sel. MDA dapat bereaksi dengan deoksiganosin dan deoksiadenosin pada DNA dan membentuk substansi MIG yang bersifat *mutagenic*.<sup>20</sup>

Radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sehingga sangat sulit mengukurnya secara langsung. Tetapi, terbentuknya peroksida lipid dapat digunakan untuk menentukan secara tidak langsung adanya radikal bebas. Marker atau produk peroksida lipid, seperti MDA dapat diukur untuk menentukan adanya radikal bebas.<sup>21</sup> MDA dapat menunjukkan adanya *free oxygen radical* dalam berbagai macam kondisi patologis.<sup>22</sup>

Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom dan yang penting dari  $\text{H}_2\text{O}_2$  ini dapat menembus membran sel. Sebagai sistem pertahanan tubuh,  $\text{H}_2\text{O}_2$  oleh katalase dapat diubah menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{O}_2$ .  $\text{H}_2\text{O}$  ini merupakan oksidan kuat karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa. Selain itu,  $\text{H}_2\text{O}_2$  oleh enzim glutathion peroksidase diubah menjadi  $\text{H}_2\text{O}$ . Pada stres oksidatif terbentuk radikal bebas oksigen dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang berlebih sehingga sistem proteksi tubuh seperti katalase dan glutathion peroksidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk.<sup>22</sup>

Selanjutnya jika  $\text{H}_2\text{O}_2$  bereaksi dengan  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Membran sel terdiri dari komponen fosfolipid, glikolipid (mengandung PUFA) dan kolesterol. PUFA (*Poly unsaturated Fatty Acid*) akan mengalami peroksidasi membentuk MDA.<sup>20</sup>

Analisa MDA merupakan analisa radikal bebas secara tidak langsung dan merupakan analisa yang cukup mudah untuk menentukan jumlah radikal bebas secara tidak langsung dan merupakan analisa yang cukup mudah untuk menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisa radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan, karena radikal-radikal ini sangat tidak stabil dan cenderung untuk merebut elektron senyawa lain agar lebih stabil. Reaksi ini berlangsung sangat

cepat sehingga pengukurannya sangat sulit bila dalam bentuk senyawa radikal bebas.<sup>6</sup>

Kadar plasma MDA diukur dengan menggunakan metode TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substance*), yang menggunakan dasar reaksi MDA terhadap asam tiobarbiturat dan selanjutnya dinilai menggunakan spektrofotometer.<sup>6</sup> Pengukuran MDA dibandingkan produk peroksidasi lipid yang lain adalah metode yang lebih murah dengan bahan yang lebih mudah didapat.<sup>6,23</sup> Hingga saat ini MDA merupakan marker yang paling banyak diteliti, dan dianggap sebagai marker peroksidasi lipid *in vivo* yang baik, baik pada manusia maupun binatang, yang secara signifikan akurat dan stabil daripada senyawa lainnya. MDA telah digunakan secara luas sebagai marker klinis peroksidasi lipid.<sup>13</sup>

### **2.3 Vitamin D**

Vitamin D termasuk dalam kelompok *secosteroid* larut lemak yang berasal dari kolesterol. Karakteristik *secosteroid* adalah adanya ikatan yg rusak pada salah satu cincin steroidnya. Sampai hari ini, telah ditemukan lebih dari 50 metabolit vitamin D dengan aktivitas biologi yang bervariasi. Dua jenis utama vitamin D adalah D<sub>3</sub> (*cholecalciferol*) dan D<sub>2</sub> (*ergocalciferol*), yang berbeda dalam hal struktur dari rantai sampingnya. Karakteristik vitamin D adalah aktivitas hormonalnya. Metabolit aktifnya disintesis di ginjal dan hati dan ditransportasikan melalui darah ke target organ dan jaringan, seperti epitel intestinal dan tulang.<sup>24</sup>

Penemuan aktivitas pleiotropik vitamin D pada sebagian besar sel dan jaringan tubuh dimulai dari survei epidemiologi yang menemukan bahwa terdapat hubungan antara kadar vitamin D yang rendah dengan peningkatan risiko berbagai macam penyakit seperti penyakit autoimun kardiovaskular, kanker, diabetes dan juga penyakit infeksi. Walaupun vitamin D diketahui berperan penting dalam menjaga kesehatan tulang dan juga berbagai macam fungsi fisiologi, banyak klinisi ragu untuk melakukan terapi defisiensi atau insufisiensi vitamin D karena adanya risiko peningkatan ekskresi kalsium urin. Hipervitaminosis dari vitamin D sudah dikenal sebagai penyebab hiperkalsemia dan hiperkalsiuria.<sup>24</sup>

### **2.3.1 Metabolisme Vitamin D**

Prekursor vitamin D terutama didapatkan dari 2 sumber: sintesis endogen dan makanan. Pada sintesis endogen, *cholecalciferol* (vitamin D<sub>3</sub>) disintesis dari *7-dehydrocholesterol* di kulit pada saat terpapar sinar ultraviolet B dari sinar matahari. Vitamin D yang berasal dari makanan sebagian besar didapatkan dalam bentuk vitamin D<sub>3</sub> (sumber hewani) dan/atau sebagai *ergocalciferol* (vitamin D<sub>2</sub>), prekursor utama didapatkan pada tumbuhan. Sumber utama vitamin D pada anak-anak dan dewasa adalah vitamin D<sub>3</sub> yang didapat dari sintesis endogen.<sup>24</sup>

Protein yang bertugas membawa berbagai jenis vitamin D adalah *vitamin D binding protein* (DBP). DBP mempunyai afinitas dan kapasitas yang tinggi terhadap vitamin D, membawa 95-99% total 25(OH)D, sebagian kecil lainnya dibawa oleh albumin dan lipoprotein melalui ikatan

nonspesifik yang lemah. Vitamin D dari makanan maupun kulit dimetabolisme di hati menjadi 25(OH)D oleh enzim 25-hidroksilase dan akan tersedia sebagai cadangan di sirkulasi dengan waktu paruh 2-3 minggu. Di dalam darah, 25(OH)D terikat dengan DBP membentuk kompleks 25(OH)D-DBP. Proses metabolisme kedua terjadi di ginjal, dimana 25(OH)D mengalami hidroksilasi pada C-1, membentuk metabolit teraktif yaitu *1,25-dihydroxyvitamin D (calcitriol)*, dan juga pada C-24 membentuk metabolit inaktif yaitu *24,25-dihydroxyvitamin D (24 - hydroxycalcidiol)*. *Calcitriol* terikat pada reseptor inti sel, *vitamin D receptor (VDR)*, yang ada di ginjal, usus kecil dan tulang. Di ginjal, 1,25(OH)<sub>2</sub>D menstimulai reabsorpsi kalsium tubulus proksimal. Di usus kecil, 1,25(OH)<sub>2</sub>D menstimulasi absorpsi kalsium dan fosfat. 1,25(OH)<sub>2</sub>D dan hormon paratiroid memobilisasi kalsium dari jaringan tulang dengan cara menstimulai osteoklas.<sup>24</sup>

Peneliti baru-baru ini menemukan 1-hidroksilasi juga terjadi pada banyak jaringan ekstra ginjal termasuk tulang, plasenta, prostat, keratinosit, makrofag, limfosit T, sel epitel kolon, sel islet pankreas dan beberapa sel kanker termasuk dari paru, prostat dan kulit begitu juga sel dari medula adrenal, kortek serebrum dan serebellum. Sepertinya 1,25-(OH)<sub>2</sub>D produksi jaringan ektrarenal bekerja secara lokal sebagai molekul sinyal *autocrine* atau *paracrine* dan tidak berkontribusi pada kadar 1,25-(OH)<sub>2</sub>D di sirkulasi. Selain itu, VDR ditemukan pada hampir semua jenis sel manusia, dari otak sampai tulang. Vitamin D mengontrol secara

langsung maupun tidak langsung lebih dari 3000 gen yang berhubungan dengan regulasi kalsium dan metabolisme tulang, modulasi imunitas bawaan, pertumbuhan dan maturasi sel, regulasi produksi insulin dan renin, induksi apoptosis dan menghambat angiogenesis. Walaupun banyak penelitian observasional mendukung adanya hubungan yang kuat antara vitamin D dengan efek ekstraskeletalnya, hubungan sebab akibat yang pasti antara rendahnya kadar vitamin D dengan berbagai penyakit belum dapat dibuktikan.<sup>24</sup>

Homeostasis vitamin D dikontrol oleh produksi 1,25-(OH)<sub>2</sub>D. Peningkatan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D menyebabkan penurunan produksinya sendiri secara langsung maupun tidak langsung. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D bekerja secara langsung dengan memberikan umpan balik negatif pada ekspresi 1-hidroksilase. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D juga menurunkan sintesis hormon paratiroid. Hormon paratiroid bekerja dengan cara meningkatkan transkripsi 1-hidroksilase. Efek 1,25-(OH)<sub>2</sub>D pada hormon paratiroid merupakan mekanisme tidak langsung. Peningkatan kadar 1,25-(OH)<sub>2</sub>D juga meningkatkan ekspresi faktor *phosphaturic, fibroblast growth factor 23* (FGF23). FGF23 menekan ekspresi 1-hidroksilase di ginjal sehingga menekan produksi 1,25-(OH)<sub>2</sub>D secara tidak langsung. Selain itu, kalsium dan fosfat dari makanan juga mempengaruhi aktivitas 1-hidroksilase yaitu peningkatan kalsium dan fosfat menurunkan aktivitas 1-hidroksilase.<sup>24</sup>

## 2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang menetralkan radikal bebas atau tindakan mereka.<sup>25</sup> Alam telah menganugerahi setiap sel dengan mekanisme perlindungan yang memadai terhadap efek radikal bebas yang berbahaya : superoksida dismutase (SOD), *glutathione peroxidase*, *glutathione reductase*, *thioredoxin*, tiol dan ikatan disulfida adalah sistem penyangga dalam setiap sel. A-Tokoferol (vitamin E) merupakan nutrisi penting yang berfungsi sebagai antioksidan dengan memecahkan rantai dan mencegah perambatan reaksi radikal bebas di semua membran sel dalam tubuh manusia. Asam askorbat (vitamin C) juga merupakan bagian dari mekanisme perlindungan normal. Antioksidan non-enzimatik lainnya yaitu termasuk karotenoid, flavonoid dan terkait polifenol, *α-lipoic acid*, *glutathione* dll.<sup>26</sup>

Antioksidan, mampu menetralkan radikal bebas, bertindak pada tahap yang berbeda. Mereka bertindak di tingkat pencegahan, intersepsi dan perbaikan. Antioksidan preventif berusaha menghentikan pembentukan ROS. Ini termasuk superoksida dismutase (SOD) yang mengkatalisis penghilangan superoksida menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan katalase itu memecahnya menjadi air.<sup>25,27</sup> Intersepsi radikal bebas terutama bersifat penangkalan radikal, sementara pada penangkalan pada tingkat sekunder mempengaruhi radikal peroksil. Efektor meliputi berbagai antioksidan seperti vitamin C dan E, *glutathione*, karotenoid, flavonoid, dll. Pada

perbaikan dan tingkat pemulihan, terutama pada perbaikan enzim yang berhubungan dengan stres oksidatif.<sup>25,28</sup>

#### **2.4.1 Vitamin D sebagai antioksidan**

Efek vitamin D pada fungsi endotel dapat terjadi melalui mekanisme pada tingkat genom atau mekanisme protektif terhadap stres oksidatif. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan pada subjek hipovitaminosis D asimtomatik menunjukkan bahwa kadar serum 25(OH)D serum berhubungan dengan peningkatan *lipid peroxidation* (TBARS) dan disfungsi endotel, yang dievaluasi dengan dilatasi persisten arteri brakialis (FMD) . Selain itu, pengobatan dengan calcitriol (1,25-dihydroxy vitamin D<sub>3</sub>) mengurangi stres oksidatif, memperkuat pertahanan antioksidan dengan menghambat oksidasi albumin, dan memperbaiki disfungsi endotel. Selain itu, penelitian sebelumnya telah menemukan bahwa vitamin D adalah membran antioksidan yang memiliki kemampuan untuk menghambat peroksidasi lipid yang mengandung besi dalam liposom.<sup>29</sup>

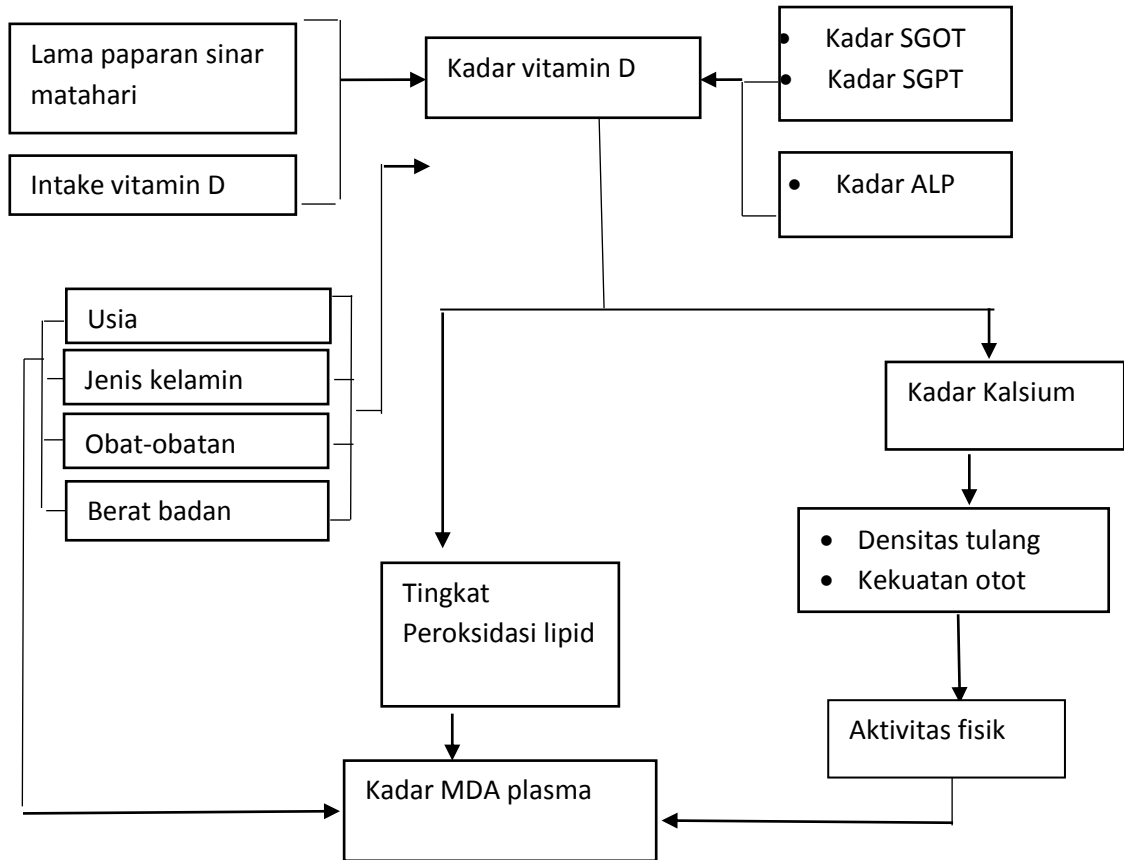
Peningkatan penanda stres oksidatif yang ditandai dengan gangguan metabolisme glukosa pada lansia dapat disebabkan oleh efek kumulatif kekurangan vitamin D dan kadar HDL yang berkurang, yang berkontribusi terhadap penurunan aktivitas antioksidan, dan mendukung proses oksidatif. Oleh karena itu, kerentanan LDL yang menurun terhadap oksidasi yang diinduksi ditemukan pada subjek lansia dengan tingkat vitamin D yang cukup, hal ini mungkin disebabkan oleh aktivitas vitamin

D dan efek pelindung antioksidan karena tingkat HDL yang lebih tinggi. Secara keseluruhan, hasil penelitian sebelumnya mendukung hipotesis bahwa vitamin D memperkuat sistem pertahanan antioksidan plasma dan dengan demikian dapat berkontribusi pada pengurangan risiko kardiovaskular.<sup>29</sup>

Dalam penelitian yang lain, anak-anak dengan nilai 25(OH)D yang tidak mencukupi menunjukkan peningkatan yang signifikan pada plasma MDA (penanda akhir lipoperoksidasi) dan aktivitas myeloperoxidase (penyusun utama makrofag dinding arteri). Keduanya telah dikaitkan dengan inisiasi dan propagasi spesies reaktif yang menggambarkan target pada sel sel *inflammatory*.<sup>9</sup>

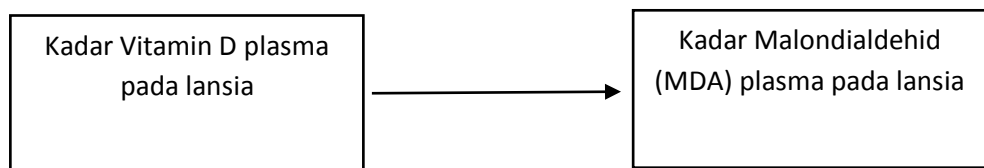
Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa paru-paru dan ginjal yang rusak akibat olahraga yang melelahkan, dapat berkurang pada kelompok yang diberi vitamin D . Selain itu, penanda peroksidasi juga lebih rendah. Menurut hasil ini, kita bisa menarik kesimpulan bahwa vitamin D dapat mengurangi kerusakan jaringan dengan menurunkan stres peroksidasi.<sup>30</sup>

## 2.5 Kerangka teori



**Gambar 2.** Kerangka Teori

## 2.6 Kerangka konsep



**Gambar 3.** Kerangka Konsep

## 2.7 Hipotesis

Kadar vitamin D plasma berpengaruh pada kadar MDA plasma pada lansia.