

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aktivitas Fisik

Menurut *World Health Organization* (WHO) aktivitas fisik dapat didefinisikan sebagai gerakan tubuh yang dihasilkan oleh otot-otot rangka dan membutuhkan energi. Berbagai aktivitas fisik seperti berlari, berjalan, bekerja, bermain, angkat beban dan berbagai latihan fisik lainnya.¹⁶ Aktivitas fisik merupakan salah satu upaya preventif berbagai jenis penyakit seperti diabetes mellitus tipe II dan penyakit jantung koroner. Berbagai manfaat akan diperoleh apabila seseorang melakukan aktivitas fisik secara teratur dan tidak berlebihan seperti peningkatan kadar HDL, densitas tulang, dan berkurangnya obesitas.¹

Hal yang berlebihan hingga menimbulkan kelelahan dan tidak diikuti dengan pola makan yang sehat dapat menghilangkan manfaat tersebut. Banyak penelitian telah membuktikan bahwa aktivitas fisik yang berlebihan dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang berujung terjadinya stress oksidatif.^{10,17,18} Salah satunya seperti peningkatan *creatin kinase* atau *lactate dehydrogenase* akibat kerusakan otot yang ditimbulkan oleh radikal bebas.¹

Selama aktivitas fisik maksimal kebutuhan oksigen tubuh mengalami peningkatan sekitar 100-200 kali lipat daripada saat beristirahat. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan kebocoran elektron pada rantai transfer elektron di mitokondria dan diproduksinya *Reactive Oxygen Species* (ROS).²

Ada beberapa jalur potensial yang berhubungan dengan terbentuknya oksidan pada saat melakukan aktivitas fisik diantaranya:

Tabel 2. Jalur Potensial Pembentukan Oksidan

Jalur	Mekanisme
Fosforilasi Oksidatif	Terjadi kebocoran elektron pada rantai transfer elektron di mitokondria akibat peningkatan kebutuhan oksigen sehingga terbentuk anion superoksida.
Xanthin Oksidase	Iskemia reperfusi jantung. Selama iskemia, ATP diubah menjadi AMP. Jika oksigen kurang maka AMP akan diubah menjadi hipoxanthin, lalu hipoxanthin diubah menjadi xanthin dan asam urat dengan bantuan enzim xanthin oksidase. Pada proses ini juga akan terbentuk radikal superoksida dan radikal hidroksil. ²
Autooksidasi	<ol style="list-style-type: none"> 1. Peningkatan katekolamin melalui aktivasi β-adrenergik setelah aktivitas fisik maksimal akan menghasilkan ROS. 2. Oksihemoglobin diubah menjadi methemoglobin menyebabkan diproduksi radikal superoksida.
Respon inflamasi	Kerusakan jaringan akibat aktivitas fisik akan mengaktifasi sel-sel inflamasi seperti neutrofil yang merupakan sumber sekunder produksi ROS. ¹⁹

Pada reaksi fosforilasi oksidatif kompleks enzim I *Nicotinamide Adenine Dinucleotide dehydrogenase* (NADH *dehydrogenase*) mentransfer elektron dari NADH dalam matriks mitokondria menuju koenzim-Q melalui *flavin mononucleotide* (FMN). Koenzim-Q juga menerima elektron dari kompleks enzim II (*succinate: ubiquinone reductase*) melewati *reduced flavine adenine dinucleotide* (FADH). Dari koenzim-Q elektron ditransfer menuju kompleks enzim III (*cytochrome c reductase*) lalu diteruskan ke *cytochrome c* dan selanjutnya menuju

kompleks enzim IV (*ferrocytochrome c: oxygen oxidoreductase*). Dalam kompleks enzim IV elektron akan bereaksi dengan oksigen untuk membentuk air. Kompleks enzim I, III dan IV memompa proton ke ruang antar membran sehingga terjadi *gradient* muatan listrik. *Gradient* ini mengakibatkan proton mengalir kembali menuju matriks mitokondria melalui kompleks enzim V *Adenosine Triphosphate synthase* (*ATP synthase*) dan perubahan energi ini digunakan untuk membentuk ATP dari *Adenosine Diphosphate* (ADP).^{20,21}

Mekanisme tersebut membutuhkan lebih dari 90% oksigen dan sekitar 1-5% akan dikonversi menjadi anion superoksida. Anion superoksida ini akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim superoksida dismutase (SOD). H_2O_2 akan dipecah menjadi air (H_2O) oleh enzim glutathion peroksidase (GSH-Px) atau katalase. Apabila hal ini tidak terjadi, maka H_2O_2 akan mengalami reaksi Fenton's dengan Fe^{2+} untuk membentuk radikal hidroksil yang sangat berbahaya. Dengan adanya peningkatan kebutuhan oksigen selama aktivitas fisik maksimal maka terjadi pula peningkatan pembentukan anion superoksida yang akhirnya menyebabkan stress oksidatif karena antioksidan endogen tidak mampu menetralsirnya.²²

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbita terluarnya.²³ Mereka bisa berasal dari dalam tubuh sendiri yang merupakan hasil dari metabolisme seluler dan dapat juga berasal dari luar (polusi, asap rokok, radiasi, obat-obatan). Contoh dari radikal

bebas adalah hidroksil (OH^\bullet), superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$), *nitric oxide* (NO^\bullet), *nitrogen dioxide* (NO_2^\bullet), *peroxyl* (ROO^\bullet) dan *lipid peroxyl* (LOO^\bullet).

Radikal bebas dapat bersifat menguntungkan dan merugikan. Dalam jumlah yang kecil hingga sedang radikal bebas dapat membantu proses perkembangan sel dan sebagai sistem pertahanan tubuh dengan cara mendestruksi mikroorganisme patogen. Namun apabila terjadi peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada lemak, protein, karbohidrat dan asam nukleat. Aktivitas radikal bebas juga dapat menyebabkan terjadinya penyakit kronis seperti atherosklerosis, kanker, diabetes, rheumatoid arthritis, sepsis, inflamasi dan penyakit degeneratif lainnya.^{4,24,25}

2.2.1 Stress Oksidatif

Stress oksidatif adalah suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kadar antioksidan. ROS diproduksi di dalam sel melalui rantai transport elektron dan beberapa enzim seperti xanthin oksidase, aldehid oksidase, dan sitokrom P-450 monooksigenase. Selain itu, ROS juga dapat terbentuk akibat faktor eksogen seperti variasi suhu, radioaktif, radiasi ultraviolet, xenobiotik, paparan asap rokok, logam berat. Kelainan metabolik dan penyakit herediter juga dapat mempengaruhi rantai transport elektron.^{3,5}

Stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan pada struktur lipid, protein dan DNA. Misalnya, radikal hidroksil dan peroksinitrit yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel dan lipoprotein melalui proses peroksidasi lipid. Protein juga dapat dirusak oleh ROS dengan cara mengubah

struktur protein tersebut dan mengnonaktifkan enzim-enzim yang ada. Sedangkan kerusakan pada DNA dapat menimbulkan terjadinya mutasi.⁴

2.2.2 Antioksidan

Istilah antioksidan dapat diartikan sebagai molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan dapat menghambat atau menunda oksidasi sebuah substrat.²⁶

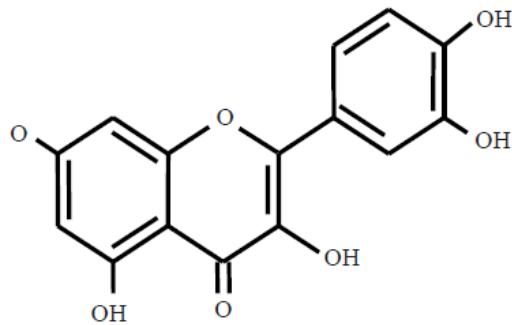
Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik disebut juga antioksidan pencegah yang terdiri atas superoksida dismutase, glutathion peroksidase dan katalase. Sedangkan antioksidan non enzimatik disebut juga antioksidan pemecah rantai meliputi vitamin C, vitamin E, β -karoten, bioflavonoid dan glutathion.²⁷

Tabel 3. Jenis-Jenis Antioksidan

Nama		Keterangan
Superoksida (SOD)	Dismutase	Antioksidan enzimatik yang dikenal sebagai <i>scavenger</i> atau pembersih ion superoksida ($O_2^{\cdot-}$). Pada mamalia terdapat tiga isoenzim SOD yaitu Cu/ZnSOD, MnSOD dan ECSOD. Ketiganya memiliki fungsi yang sama namun karakteristik yang berbeda.
Glutathion Peroksidase (GSH-Px)		Enzim yang mampu memecah H_2O_2 atau hidroperoksida organik menjadi H_2O atau alkohol dengan menggunakan glutathion tereduksi (GSH) sebagai donor elektronnya. ²⁵
Katalase (CAT)		Suatu hemoprotein yang mengandung empat gugus heme yang berfungsi memecah hidrogen peroksida menjadi air. ²⁸ Enzim ini dapat ditemukan pada peroksisom, sitoplasma dan mitokondria. ²⁵

Vitamin C	Vitamin C atau yang biasa dikenal dengan asam askorbat merupakan salah satu vitamin yang larut dalam air. Vitamin C ini dapat berperan sebagai <i>scavenger</i> radikal bebas oksigen bersama dengan vitamin E. ³
Vitamin E	Vitamin yang larut dalam lemak yang dapat menetralkan efek dari peroksida dan mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel. ²⁵
β -karoten	Pigmen warna yang terdapat pada tumbuhan dan dapat berperan sebagai antioksidan karena dapat bereaksi dengan radikal peroksil (ROO [*]), hidroksil (OH [*]) dan superoksida (O ₂ [*]).
Bioflavonoid	Merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat pada tumbuhan. Senyawa ini dapat mencegah atau menunda terjadinya penyakit kronik dan degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskuler, inflamasi, katarak, infeksi dan penuaan. ⁴
Glutation (GSH)	Kofaktor dari beberapa enzim seperti GSH-Px dan transferase. Glutation juga berperan dalam mengkonversi kembali vitamin C dan E ke dalam bentuk aktifnya serta dapat mencegah terjadinya apoptosis pada sel. ³

Salah satu antioksidan yang banyak terkandung pada kulit buah naga merah adalah bioflavonoid. Senyawa tersebut merupakan senyawa polifenol yang memberikan warna merah, ungu, biru dan sebagian warna kuning pada tumbuhan. Peran antioksidan pada flavonoid dengan cara mendonorkan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon.



Gambar 1. Kerangka Dasar Flavonoid⁶

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yaitu satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Untuk mendapatkan senyawa tersebut dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut polar seperti etanol, metanol, etilasetat atau campuran dari beberapa larutan tersebut.^{29,6}

2.3 Kulit Buah Naga Merah

Buah naga atau *pitaya* termasuk ke dalam kelompok tanaman kaktus (*Cactaceae*) yang berasal dari Mexico, Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Tanaman ini mempunyai batang sulur yang tumbuh menjalar berwarna hijau dan berbentuk segitiga. Bunganya berwarna putih hingga kuning muda dengan ukuran yang besar dan biasanya mekar sekitar pukul enam sore. Jika bunga ini telah layu, maka akan terbentuk bakal buah sebesar telur ayam berwarna hijau. Pada umur 35 hari setelah bunga mekar, buah naga dapat dipanen dengan tanda kulit buah naga sudah berubah menjadi merah. Bobot buah naga umumnya berkisar antara 400-700 gram.

Buah naga dapat dibagi menjadi empat jenis berdasarkan warna buahnya yaitu buah naga daging putih (*Hylocereus undatus*), buah naga daging merah (*Hylocereus polyrhizus*), buah naga daging super merah (*Hylocereus costaricensis*) dan buah naga kulit kuning daging putih (*Selenicereus megalanthus*).³⁰

Tabel 4. Kandungan Antioksidan antara Kulit dengan Daging Buah Naga Merah⁹

Sampel			Kadungan Fenolik (mg/100g)	Aktivitas Menghambat Antioksidan (mg/ml)
Kulit Buah Naga Merah			28,16	83,48±1,02%
Daging	Buah	Naga Merah	19,72	27,45±5,03%

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) mengandung vitamin C, protein, flavonoid, tiamin, betasianin, antosianin, polifenol, dan juga kaya *phytoalbumins* yang merupakan sumber antioksidan.³¹ Selain itu aktivitas antioksidan pada kulit buah naga lebih besar daripada daging buahnya. Nurliyana *et al* menyatakan bahwa dalam 1 mg/ml kulit buah naga merah mampu menghambat 83,48±1,02% radikal bebas, sedangkan pada daging buah naga merah hanya mampu menghambat sebesar 27,45±5,03%.⁹

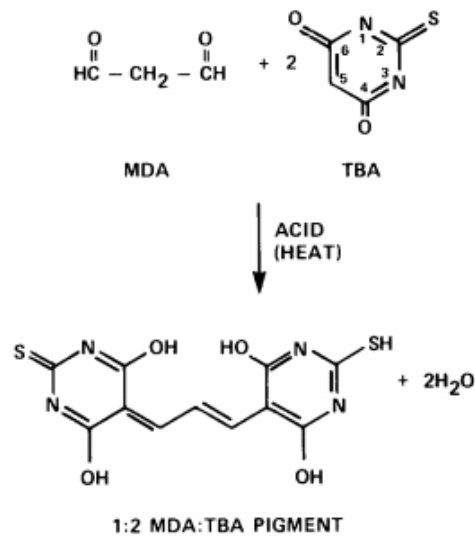
Berdasarkan penelitian Niah *et al* ekstrak etanol kulit buah naga merah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,14 gram/100 ml.³² Kadar antosianin pada kulit buah naga super merah dengan waktu pemanasan enam menit dengan *microwave* dan penambahan rasio pelarut (aquades : asam sitrat) 4:1 menghasilkan rendeman sebesar 0,57 g/g dan kadar antosianin sebesar 28,11

mg/100 gram.³³ Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Meidayanti *et al* menyatakan aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol kulit buah naga super merah memiliki nilai IC_{50} 73,2772 mg/L dengan kadar total antosianin sebesar $58,0720 \pm 0,0001$ mg/L. Senyawa antosianin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah naga super merah diduga jenis sianidin.³⁴

2.4 Malondialdehid

Peroksidasi lipid terjadi ketika radikal hidroksil menyerang asam lemak khususnya asam lemak tak jenuh jamak atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA). Proses ini diawali dengan terbentuknya radikal lipid berinti karbon. Radikal lipid ini dapat dengan cepat bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal lipid peroksil. Radikal peroksil dapat mengabstraksi atom hidrogen dari radikal lipid yang lain dan membentuk hidroperoksida lipid sebagai produk primer dari peroksidasi lipid. Melalui pemanasan atau reaksi yang melibatkan logam, hidroperoksida lipid dapat dengan mudah berubah menjadi senyawa yang bersifat toksik yakni malondialdehid (MDA), propanal, heksanal dan 4-hidroksinonenal (4-HNE).^{35,36}

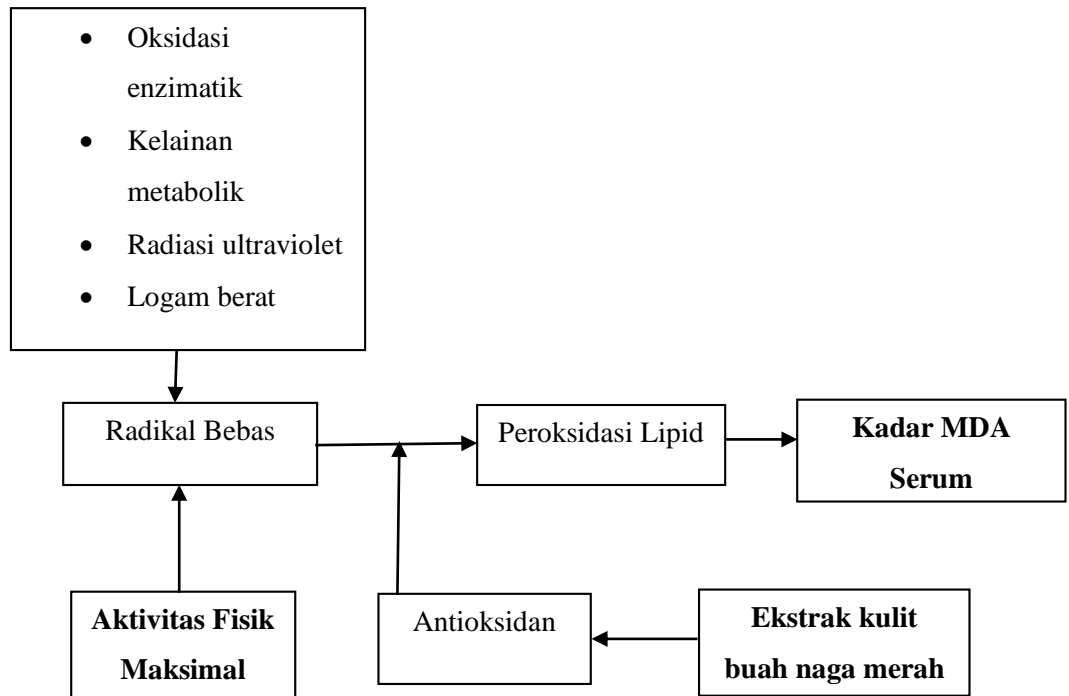
Malondialdehid merupakan biomarker yang dapat digunakan untuk menentukan tingkat stress oksidatif pada tubuh. Analisis kadar MDA merupakan analisis yang bersifat tidak langsung dan sangat mudah untuk menentukan kadar radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan karena senyawa radikal bebas bersifat tidak stabil, waktu paruhnya pendek dan menghilang dalam hitungan detik.



Gambar 2. Reaksi antara kompleks MDA dengan TBA³⁷

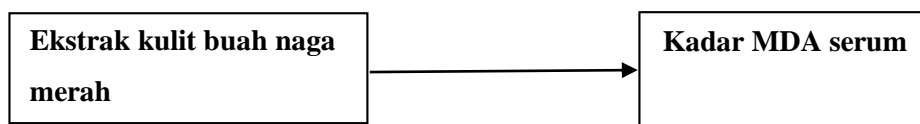
Pengukuran kadar MDA dapat dilakukan dengan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS). Metode ini didasarkan pada reaksi antara kompleks MDA dengan TBA dalam suasana asam yang membentuk kompleks MDA-TBA yang berwarna merah jambu yang kemudian diukur intensitasnya dengan spektrofotometer. Keunggulan pengukuran kadar MDA dibandingkan dengan produk peroksidasi lipid yang lain adalah murah, bahan mudah didapat serta valid.¹¹

2.5 Kerangka Teori



Gambar 3. Diagram Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 4. Diagram Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

2.7.1 Hipotesis Mayor

Terdapat pengaruh ekstrak kulit buah naga merah terhadap kadar malondialdehid tikus setelah aktivitas fisik maksimal.

2.7.2 Hipotesis Minor

Hipotesis minor dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat penurunan kadar malondialdehid tikus yang diberikan ekstrak kulit buah naga merah jika dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan ekstrak kulit buah naga merah.
2. Terdapat penurunan kadar malondialdehid tikus setelah aktivitas fisik maksimal yang diberikan ekstrak kulit buah naga merah jika dibandingkan dengan kadar malondialdehid tikus setelah aktivitas fisik maksimal yang tidak diberikan ekstrak kulit buah naga merah.