



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENGARUH SUPLEMENTASI ORAL VITAMIN C DAN E  
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA  
PEROKOK KRETEK FILTER DI JAKARTA**

**TESIS**

**EMILIA SLAMAT**

**0806419762**

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
KEKHUSUSAN ILMU GIZI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA  
OKTOBER 2010**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENGARUH SUPLEMENTASI ORAL VITAMIN C DAN E  
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA  
PEROKOK KRETEK FILTER DI JAKARTA**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister**

**EMILIA SLAMAT**

**0806419762**

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
KEKHUSUSAN ILMU GIZI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA  
OKTOBER 2010**

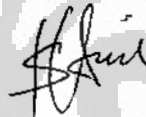
## LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri  
Dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk  
Telah saya nyatakan dengan benar**

**Nama : Emilia Slamat**

**NPM : 0806419762**

**Tanda tangan :**



**Tanggal : 19 Oktober 2010**

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Emilia Slamat  
NPM : 0806419762  
Program Studi : Ilmu Gizi  
Fakultas : Kedokteran  
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

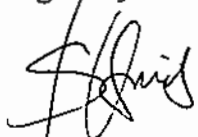
**Pengaruh Suplementasi Oral Vitamin C dan E Terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Perokok Kretek Filter Di Jakarta**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalty Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Dibuat di Jakarta

Pada tanggal 19 Oktober 2010

Yang menyatakan

  
(Emilia Slamat)

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran ke hadirat Bapa di surga, Tuhan Yesus Kristus atas berkat, kasih dan penyertaan-Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini.

Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, tersamar tunggal, alokasi acak, pada pekerja laki-laki perokok kretek filter di rumah makan, Jakarta Utara. Penelitian ini membandingkan antara kelompok perlakuan yang mendapat suplementasi vitamin C 500 mg dikombinasi dengan vitamin E 400 IU dengan kelompok plasebo, masing-masing dikonsumsi sekali sehari selama empat minggu untuk mengetahui pengaruh suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar MDA plasma.

Penyelesaian tesis ini adalah berkat bimbingan para dosen pembimbing, tim peneliti, serta staf pengajar yang terlibat. Terima kasih dan penghargaan yang tak terhingga penulis haturkan kepada Prof. Dr. Walujo S.S, MSc, SpGK, PhD dan Prof. Dr. Lukman Hakim Makmun, SpPD, KKV, KGER, FINASIM sebagai pembimbing yang dengan penuh dedikasi telah memotivasi dan mengarahkan penulis dengan sangat baik. Hanya Tuhan YME sajalah yang dapat membalas kebaikan mereka dengan sebaik-baiknya balasan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Gizi Klinik yang dengan perantaraan mereka ilmu disampaikan kepada kami. Terima kasih kepada dr. Victor Tambunan, MS, SpGK selaku Ketua Departemen Ilmu Gizi, dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK selaku Ketua Program Studi Ilmu Gizi, dr. Diana Sunardi, M.Gizi selaku Ketua Kekhususan Ilmu Gizi Klinik, dr. Dian Novita C, M.Gizi, yang senantiasa memotivasi dan memberi masukan-masukan bermanfaat. Terima kasih juga kepada dr. Ninik Mudjihartini, MS, dr. Retno Asti Werdhani, M.Epid, dr. Arya Kekalih, MTI dan juga DR. Dr. Idrus Alwi, SpPD-KKV, FACC, FESC, FINASIM yang telah banyak memberi arahan, bantuan dan saran dalam penyelesaian tesis ini. Terima kasih juga kepada seluruh karyawan Departemen Ilmu Gizi FKUI dan seluruh pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu untuk dukungan dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan.

Terima kasih yang tak terhingga juga kepada sahabat dan rekan-rekan, atas kebersamaan dan setiap pertolongan yang diberikan. Juga pada seluruh subyek penelitian yang dengan sukarela mengikuti seluruh rangkaian penelitian ini, penulis ucapkan banyak terima kasih. Semoga kerelaan mereka berperan dalam pengembangan ilmu pengetahuan dapat bermanfaat.

Kepada suamiku tercinta Nico GS, terima kasih atas setiap pengertian, kasih sayang, doa dan dukungan yang diberikan. Kepada anakku tersayang, yang masih dalam kandunganku, kau yang menjadi sumber kebahagiaan dan inspirasi mama dalam menjalani dan menyelesaikan pendidikan.

Kepada orang tua, mertua, serta keluarga dan kerabat, terimakasih sedalam-dalamnya untuk dukungan dan doa bagi keberhasilan penulis menempuh pendidikan dan selesainya tesis ini.

Akhir kata, kepada seluruh pihak yang telah membantu, penulis mendoakan agar Tuhan YME membalas segala kebaikan dengan balasan yang sebaik-baiknya. Semoga tesis ini memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu kedokteran, khususnya bagi kemajuan ilmu gizi klinik dalam rangka tatalaksana bagi para perokok yang lebih baik. Amin.

## ABSTRAK

- Nama** : Emilia Slamet
- Program** : Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik
- Judul** : PENGARUH SUPLEMENTASI ORAL VITAMIN C DAN E TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA PEROKOK KRETEK FILTER DI JAKARTA
- Tujuan** : Mengetahui efek pemberian suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar malondialdehida plasma pada perokok kretek filter selama empat minggu di Jakarta.
- Metode** : Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, acak, tersamar tunggal antara kelompok yang mendapat suplementasi vitamin C dan E (P) dengan kelompok yang mendapat plasebo (K). Sebanyak 40 orang perokok kretek filter di rumah makan, Jakarta Utara memenuhi kriteria dan diikuti dalam penelitian. Dilakukan randomisasi blok untuk menentukan kelompok perlakuan dan kontrol. Kelompok perlakuan mendapatkan suplementasi vitamin C 500 mg dan E 400 IU/hari peroral selama empat minggu, dan kelompok kontrol mendapat plasebo. Data yang dikumpulkan meliputi data demografi (usia, konsumsi rokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa darah puasa, kadar kolesterol total), IMT, analisis asupan zat gizi, kadar malondialdehida plasma. Analisis data menggunakan uji t tidak berpasangan atau uji Mann Whitney dengan batas kemaknaan  $p < 0,05$ .
- Hasil** : Karakteristik demografi subyek pada awal penelitian meliputi usia, konsumsi rokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa darah puasa, kadar kolesterol total, IMT, analisis asupan zat gizi, kadar malondialdehida plasma antara kelompok perlakuan dan kontrol homogen. Rerata kadar MDA plasma awal pada kelompok perlakuan dan pada kelompok kontrol  $1,39 \pm 0,19$  vs  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL. Pada akhir perlakuan, rerata kadar MDA plasma sebesar  $1,18 \pm 0,22$  pada kelompok perlakuan dan  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL kelompok kontrol, berbeda bermakna ( $p < 0,037$ ).
- Simpulan** : Setelah suplementasi vitamin C 500 mg dan E 400 IU/ hari selama empat minggu terdapat perbedaan bermakna rerata kadar MDA plasma antara kedua kelompok.
- Kata Kunci** : vitamin C, vitamin E, antioksidan, malondialdehida plasma, rokok kretek filter
- Pembimbing** :
1. Prof. Dr. Walujo S.S, MSc, SpGK, PhD
  2. Prof.Dr. Lukman Hakim Makmun, SpPD, KKV, KGER, FINASIM

## ABSTRACT

- Name** : Emilia Slamet
- Program** : Nutrition, Clinical Nutrition
- Title** : EFFECTS OF VITAMIN C AND E SUPPLEMENTATION ON PLASMA MALONDIALDEHYDE IN CLOVE CIGARETTES SMOKERS IN JAKARTA
- Objective** : To investigate the effects of vitamin C and E supplementation on plasma malondialdehyde in clove cigarettes smokers during four weeks in Jakarta
- Methods** : This is a parallel randomized single-blind clinical study between interventional group with vitamin C and E supplementation (P) and control group with placebo (K). Forty clove cigarettes smokers in Restaurant, Jakarta had fulfilled the criteria and recruited in the research. Subjects were allocated by block randomization into intervention and control group. Intervention group treated with vitamin C 500 mg and vitamin E 400 IU daily for 4 weeks, while control group treated with placebo. Data collection includes demographic characteristic (age, smoking habits, Brinkman index, blood pressure, blood glucose, total cholesterol), body mass index (BMI), daily nutrient analysis, plasma MDA. Statistical analysis using unpaired t-test or Mann Whitney test with significant level at  $p < 0,05$ .
- Results** : Demographic characteristic (age, smoking habits, Brinkman index, blood pressure, blood glucose, total cholesterol), body mass index (BMI), daily nutrient analysis, plasma MDA between both groups were homogen. Initial plasma MDA in the intervention group and control were  $1,39 \pm 0,19$  vs  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL. After intervention plasma MDA were  $1,18 \pm 0,22$  in the intervention group and  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL in control group ( $p < 0,037$ ).
- Conclusion** : After supplementation of vitamin C 500 mg/day and vitamin E 400 IU/day during 4 weeks, showed significantly differences average of plasma MDA between two groups.
- Key Words** : Vitamin C, vitamin E, antioxidant, plasma malondialdehyde, clove cigarettes smokers.
- Supervisors** : 1. Prof. Dr. Walujo S.S, MSc, SpGK, PhD  
2. Prof. Dr. Lukman Hakim Makmun, SpPD, KKV, KGER, FINASIM

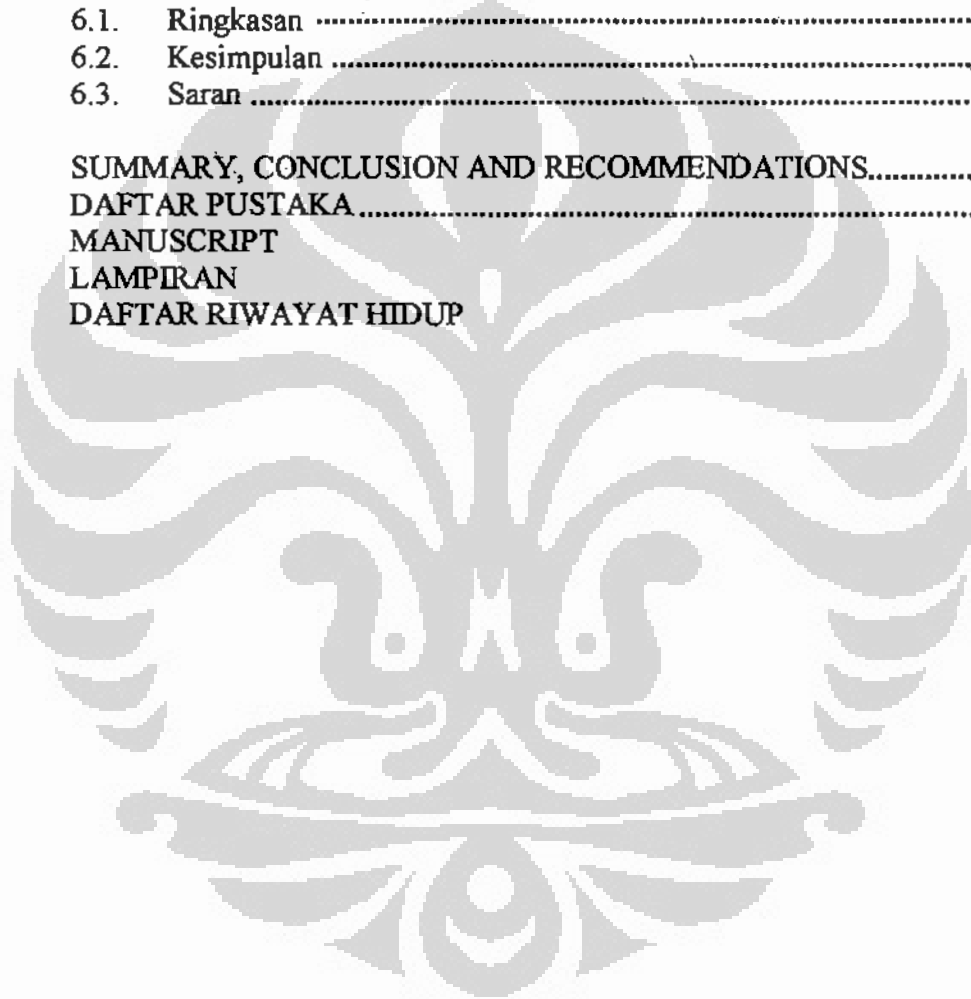


## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN PUBLIKASI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Permasalahan.....	4
1.2.1. Identifikasi masalah.....	4
1.2.2. Rumusan masalah.....	4
1.3. Hipotesis.....	4
1.4. Tujuan.....	5
1.4.1. Tujuan umum.....	5
1.4.2. Tujuan khusus.....	5
1.5. Manfaat.....	5
1.5.1. Untuk subyek penelitian.....	5
1.5.2. Untuk institusi.....	5
1.5.3. Untuk peneliti.....	6
<b>BAB 2. Tinjauan Pustaka</b> .....	<b>7</b>
2.1. Radikal Bebas.....	7
2.1.1. Peroksidasi lipid dan malondialdehida (MDA).....	8
2.1.2. Malondialdehida (MDA).....	9
2.1.3. Rokok sebagai sumber radikal bebas.....	10
2.1.3.1 Mekanisme terbentuknya radikal bebas dalam rokok.....	11
2.1.4. Rokok kretek.....	11
2.1.4.1 Kandungan rokok kretek.....	11
2.1.4.2. Nikotin.....	12
2.1.4.3. Karbonmonoksida (CO).....	13
2.1.4.4. Tar.....	13
2.1.5. Rokok dan aterosklerosis.....	13
2.2. Vitamin C.....	16
2.2.1. Sifat kimia & fisik.....	16
2.2.2. Absorpsi dan metabolisme.....	16
2.2.3. Vitamin C sebagai antioksidan.....	18
2.2.4. Kebutuhan, defisiensi, toksisitas.....	19

2.2.5.	Penilaian status vitamin C .....	20
2.2.6.	Bahan makanan sumber .....	20
2.3.	Vitamin E.....	20
2.3.1.	Struktur dan sifat kimia .....	21
2.3.2.	Absorpsi, metabolisme, ekskresi .....	22
2.3.3.	Fungsi dan mekanisme kerja.....	24
2.3.4.	Kebutuhan .....	25
2.3.5.	Defisiensi dan toksisitas.....	25
2.3.6.	Bahan makanan sumber .....	25
2.3.7.	Penilaian status vitamin E.....	26
2.4.	Pengaruh Suplementasi Vitamin C dan E Terhadap Kadar MDA Plasma Perokok.....	27
2.5.	Kerangka Teori .....	31
2.6.	Kerangka Konsep.....	32
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>		<b>33</b>
3.1.	Rancangan Penelitian.....	33
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian .....	33
3.3.	Bahan Penelitian.....	33
3.3.1.	Populasi dan Sampel.....	33
3.3.2.	Kriteria Penelitian.....	33
3.3.3.	Besar Sampel.....	34
3.4.	Instrumen Pengumpulan Data .....	35
3.4.1.	Formulir .....	35
3.4.2.	Peralatan .....	35
3.4.3.	Spesimen .....	36
3.4.4.	Bahan suplementasi .....	36
3.5.	Cara Kerja.....	36
3.5.1.	Cara Memperoleh Subyek Penelitian .....	36
3.5.2.	Penatalaksanaan Penelitian .....	37
3.5.3.	Prosedur Pengumpulan Data .....	38
3.6.	Identifikasi variabel .....	40
3.7.	Pengolahan, Analisis, Interpretasi dan Penyajian Data.....	41
3.7.1.	Pengolahan Data .....	41
3.7.2.	Analisis dan Interpretasi Data.....	41
3.7.3.	Penyajian Data.....	41
3.8.	Batasan Operasional .....	42
3.9.	Organisasi Penelitian .....	46
3.10.	Alur penelitian .....	47
<b>BAB 4. HASIL PENELITIAN .....</b>		<b>48</b>
4.1.	Seleksi subyek penelitian .....	48
4.2.	Karakteristik demografi subyek penelitian .....	48
4.3.	Status Gizi .....	49
4.4.	Asupan Zat Gizi .....	50
4.5.	Kadar dan perbedaan MDA plasma.....	52
<b>BAB 5. PEMBAHASAN.....</b>		<b>54</b>

5.1.	Keterbatasan Penelitian .....	54
5.2.	Seleksi subyek penelitian .....	55
5.3.	Karakteristik demografi subyek penelitian .....	56
5.3.1.	Usia .....	56
5.3.2.	Konsumsi rokok dan indeks Brinkman .....	56
5.3.3.	Tekanan darah, kadar glukosa darah puasa, kolesterol total.....	57
5.3.4.	Status Gizi (IMT).....	57
5.3.5.	Asupan Zat Gizi.....	58
5.4.	Kadar dan perubahan MDA plasma .....	62
BAB 6. RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN .....		64
6.1.	Ringkasan .....	64
6.2.	Kesimpulan .....	67
6.3.	Saran .....	67
SUMMARY, CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS.....		69
DAFTAR PUSTAKA.....		72
MANUSCRIPT		
LAMPIRAN		
DAFTAR RIWAYAT HIDUP		

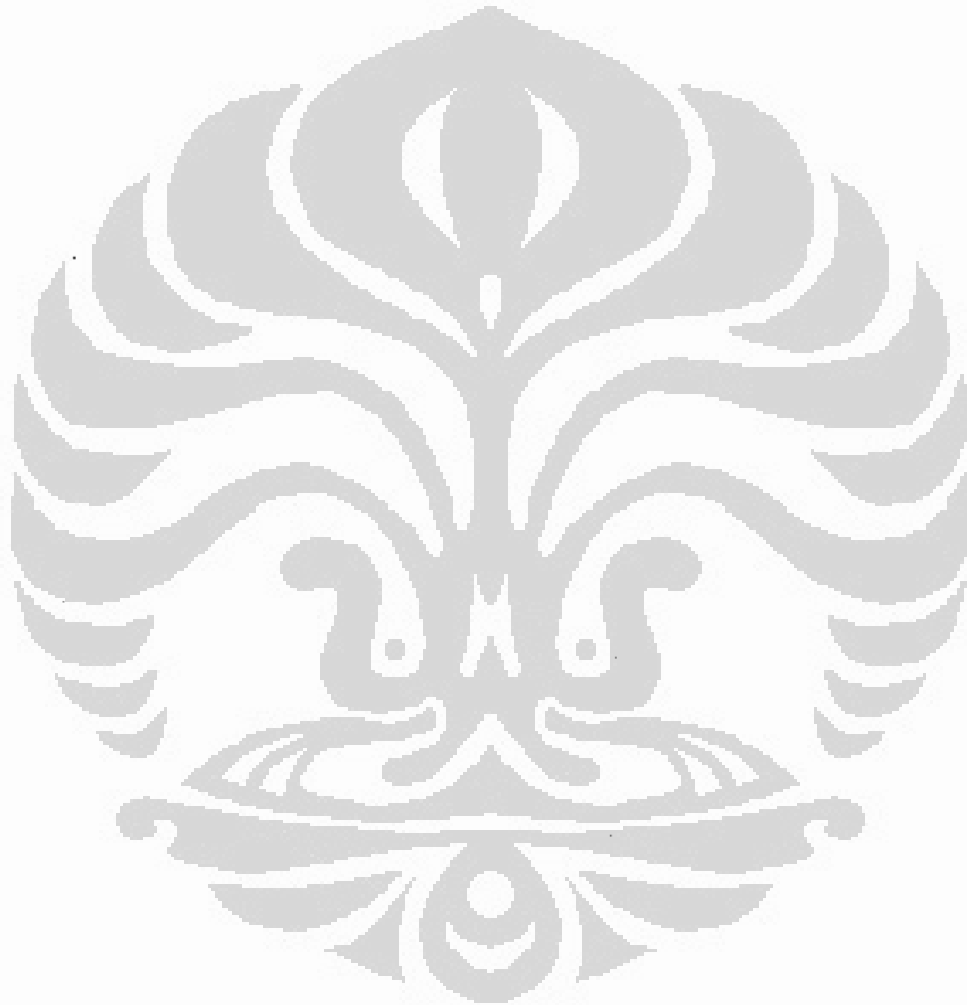


## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Daftar Bahan Kimia yang Terdapat dalam Asap Rokok yang Dihisap .....	10
Tabel 2.2. Kadar vitamin C di jaringan dan cairan tubuh .....	17
Tabel 2.3. Spesies oksigen reaktif dan nitrogen reaktif yang dapat diredam oleh askorbat .....	18
Tabel 2.4. Angka Kecukupan Gizi (AKG) yang dianjurkan untuk vitamin C .....	19
Tabel 2.5. Pedoman penilaian pengukuran status vitamin C secara biokimia .....	20
Tabel 2.6. Nilai vitamin C dalam buah dan sayuran segar (mg/100 gram) .....	20
Tabel 2.7. Kandungan vitamin E dalam jaringan .....	24
Tabel 2.8. Angka kecukupan gizi yang dianjurkan untuk vitamin E .....	25
Tabel 2.9. Makanan yang mengandung vitamin E .....	26
Tabel 2.10. Hubungan level merokok terhadap Malondialdehida (MDA).....	27
Tabel 2.11. Hubungan kadar serum vitamin C dengan kematian akibat PKV.....	28
Tabel 2.12. Pemberian vitamin C dan E pada perokok.....	30
Tabel 3.1. Matriks identifikasi variabel.....	40
Tabel 3.2. Klasifikasi status gizi .....	43
Tabel 3.3. Interpretasi Asupan Energi.....	44
Tabel 4.1. Karakteristik subyek penelitian berdasarkan usia, konsumsi rokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa darah puasa, kadar kolesterol total, IMT, asupan nutrisi selama perlakuan dan kadar MDA sebelum perlakuan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol .....	49
Tabel 4.2. Status gizi berdasarkan indeks massa tubuh (IMT) pada H-8 dan H 29 masa perlakuan pada kelompok perlakuan & kontrol .....	50
Tabel 4.3. Kebutuhan, asupan energi dibandingkan kebutuhan; persentase	

asupan protein, lemak, karbohidrat terhadap total energi, serta vitamin C, dan E pada awal dan akhir dengan metode *food record* (dua kali per minggu) ..... 51

Tabel 4.4. Rerata dan uji statistik kadar MDA plasma subyek pada kelompok perlakuan dan kontrol ..... 52



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Peroksidasi lipid .....	9
Gambar 2.2. Senyawa dan gugus kimia rokok .....	10
Gambar 2.3. Struktur kimia Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol) .....	12
Gambar 2.4. Efek samping nikotin.....	13
Gambar 2.5. Hipotesis respon terhadap luka pada pembentukan aterosklerosis.....	15
Gambar 2.6. Struktur kimia vitamin C.....	16
Gambar 2.7. Oksidasi vitamin C .....	17
Gambar 2.8. Struktur vitamin E .....	21
Gambar 2.9. Jalur metabolisme vitamin E .....	23
Gambar 4.1. Diagram rerata kadar MDA plasma subyek pada awal dan akhir perlakuan .....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

Keterangan lolos kaji etik

Lampiran 2

Formulir A : Formulir seleksi subyek penelitian

Formulir B1 : Lembar informasi untuk subyek penelitian

Formulir B2 : Lembar persetujuan untuk subyek penelitian

Formulir C : Formulir karakteristik subyek penelitian

Lampiran 3

Formulir D : Formulir penilaian asupan harian dengan *food record* 2x24 jam

Lampiran 4

Formulir E : Formulir data antropometri, yaitu BB, TB dan IMT

Lampiran 5

Formulir F : Formulir data laboratorium kadar MDA plasma

Lampiran 6

Formulir G : Formulir data kepatuhan

Lampiran 7 : Prosedur pemeriksaan laboratorium

Lampiran 8 : Prosedur randomisasi blok

Lampiran 9 : Tabel *dummy*

## DAFTAR SINGKATAN

$\alpha$ -TTP	: <i><math>\alpha</math>-Tocoferol Transfer Protein</i>
AA	: <i>Ascorbic Acid</i>
AF	: <i>Aktivitas Fisik</i>
AKG	: <i>Angka Kecukupan Gizi</i>
ALTJG	: <i>Asam Lemak Tak Jenuh Ganda</i>
BB	: <i>Berat Badan</i>
BPS	: <i>Badan Pusat Statistik</i>
CAD	: <i>Coronary Artery Disease</i>
CO	: <i>Karbonmonoksida</i>
DHAA	: <i>Dehidroascorbic Acid</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
DRI	: <i>Dietary Recommended Intake</i>
GDP	: <i>Gula Darah Puasa</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ICAM	: <i>Intracellular Adhesion Molecules</i>
IHD	: <i>Ischemic Heart Disease</i>
IMT	: <i>Indeks Massa Tubuh</i>
KEB	: <i>Kebutuhan Energi Basal</i>
KET	: <i>Kebutuhan Energi Total</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
MCT	: <i>Medium Chain Triglyceride</i>
MDA	: <i>Malondialdehida</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NF- $\kappa$ B	: <i>Nuclear Factor-kappa B</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PJK	: <i>Penyakit Jantung Koroner</i>
PKV	: <i>Penyakit Kardiovaskular</i>



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular (PKV) adalah penyebab kematian nomor satu di negara maju, dan jumlah penderitanya meningkat dengan pesat di negara berkembang, termasuk Indonesia. Menurut data profil kesehatan Indonesia, tahun 1972 PKV berada di peringkat kesebelas, tahun 1980 di peringkat ketiga dan tahun 2006 berada di urutan pertama penyebab kematian di Indonesia.<sup>1</sup> Pada dasarnya PKV adalah manifestasi aterosklerosis di pembuluh darah koroner yang dikenal sebagai penyakit jantung koroner (PJK), disebut juga *Atherosclerotic Heart Disease*; *Coronary Artery Disease (CAD)*, *Arteriosclerotic Coronary Artery Disease*; *Ischemic Heart Disease (IHD)*.

Kebiasaan merokok merupakan salah satu faktor risiko penting PKV di samping faktor risiko lain seperti hipertensi, dislipidemia, diabetes melitus, dan obesitas.<sup>2</sup> Menurut laporan WHO 2002, di antara negara-negara industri yang menganggap merokok adalah hal umum, merokok diestimasi 90% menyebabkan kanker paru-paru pada pria, dan sekitar 70% menyebabkan kanker pada wanita. Di negara-negara industri ini sekitar 56-80% adalah penyakit pemapasan kronis dan sekitar 22% penyakit kardiovaskular.<sup>3</sup> Menurut data *smoking prevalence* Lembaga Demografi Universitas Indonesia terjadi peningkatan jumlah perokok aktif di Jakarta sekitar 1% per tahun terutama pada laki-laki. Pada tahun 2001, jumlah perokok aktif di Jakarta mencapai 27,7%, tahun 2008 mencapai 35% dari 9,057 juta jiwa atau sekitar tiga juta jiwa.<sup>4</sup> Pada usia 15-24 tahun jumlah perokok mencapai 24,6%, sedangkan usia 25-54 tahun mencapai 35-38%, dengan rata-rata konsumsi 12-14 batang/hari. Berat ringannya merokok dapat dihitung berdasarkan indeks *Brinkman* (lamanya merokok dalam tahun dikali dengan jumlah batang rokok per hari).<sup>5,6</sup> Perokok laki-laki di Jakarta lebih banyak mengonsumsi jenis rokok kretek filter (69,7%) dibandingkan dengan rokok putih (13,4%). Kadar tar dan nikotin pada rokok kretek filter lebih tinggi dibandingkan dengan jenis rokok putih filter.<sup>6</sup>

Peningkatan konsumsi rokok akan meningkatkan jumlah radikal bebas dan hal ini dapat meningkatkan aktivitas peroksidasi lipid pada membran sel

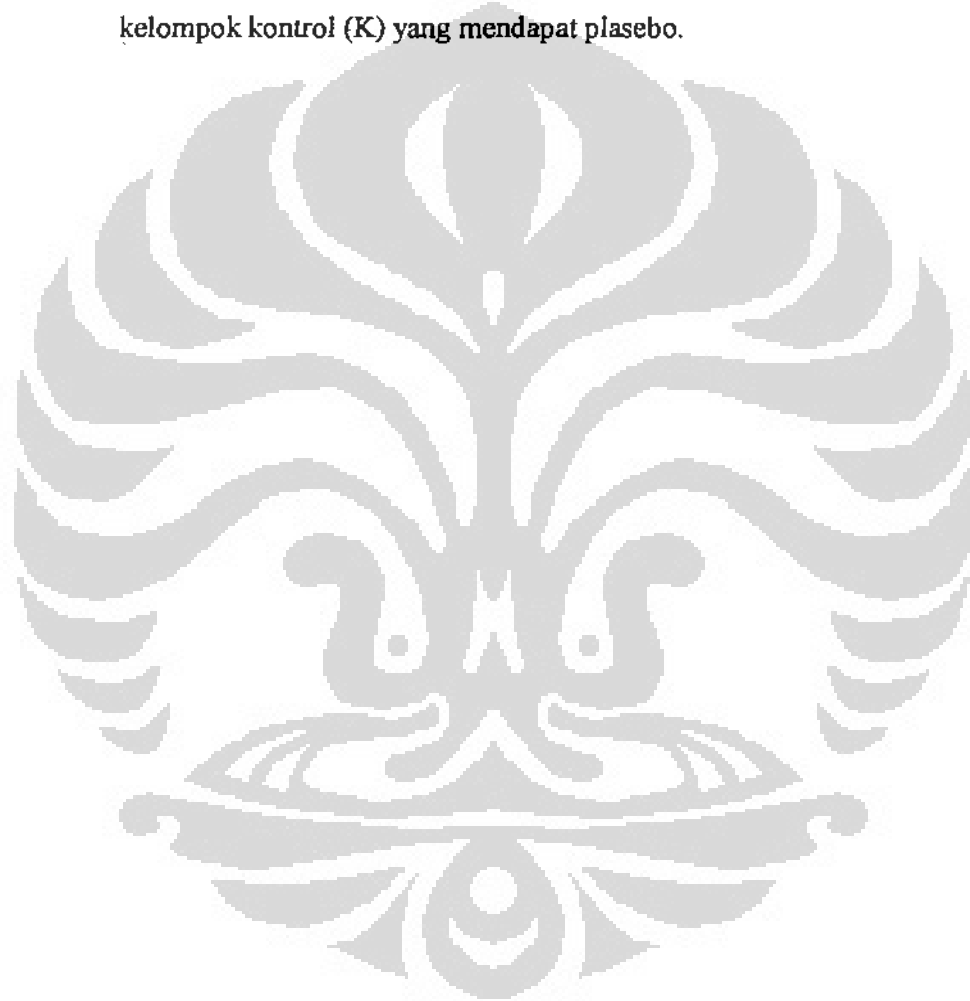
endotel pembuluh darah dan kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) di sub intima. Salah satu hasil peroksidasi lipid adalah malondialdehid (MDA). Akibat peroksidasi lipid, fraksi LDL menjadi rentan untuk mengalami oksidasi oleh radikal bebas dan terjadi penurunan jumlah antioksidan endogen sehingga LDL lebih mudah ditangkap oleh makrofag. Oksidasi LDL merupakan awal terbentuknya sel busa (*foam cell*) yang berubah menjadi alur lemak (*fatty streak*), kemudian berkembang membentuk plak aterosklerosis.<sup>7</sup> Di samping itu, peningkatan konsumsi rokok dapat menurunkan kadar antioksidan dalam tubuh. Beberapa penelitian menunjukkan kadar vitamin C dan E dalam darah lebih rendah pada perokok dibandingkan bukan perokok.<sup>8,9</sup> Menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS, 2007), sebanyak 94,5% penduduk di Indonesia asupan sayur dan buah, yang merupakan sumber antioksidan, masih tergolong rendah.<sup>6</sup>

Proses peroksidasi lipid dapat dikurangi dengan antioksidan. Vitamin C bekerja sebagai antioksidan larut air yang dapat menghambat radikal bebas sebelum radikal tersebut mencapai membran seluler, sedangkan vitamin E merupakan salah satu antioksidan lipofilik terbanyak di dalam LDL yang berfungsi melindungi LDL dari peroksidasi lipid dengan berperan sebagai pemutus rantai peroksidasi lipid dan penangkap radikal bebas.<sup>10,11,12</sup>

Hyun dkk<sup>13</sup>, meneliti pada subyek perokok dan bukan perokok yang terbagi menjadi tiga kelompok, masing-masing mendapat suplementasi vitamin C 500 mg, vitamin E 400 IU dan kombinasi. Suplementasi diberikan selama empat minggu. Hasil penelitian memperlihatkan penurunan MDA plasma lebih besar pada kelompok perokok yang mendapat kombinasi vitamin C dan E, (dari  $3,0 \pm 0,7$   $\mu\text{mol/L}$  menjadi  $2,3 \pm 0,6$   $\mu\text{mol/L}$ ) dibandingkan kelompok perokok yang mendapatkan suplementasi secara tunggal.

Penelitian Puchaiwatananon dkk<sup>14</sup>, pada perokok menunjukkan bahwa pada pemberian kombinasi vitamin C 500 mg dan vitamin E 500 mg selama empat minggu, peningkatan kadar vitamin C (dari  $0,57 \pm 0,05$  mg/dl menjadi  $0,89 \pm 0,03$  mg/dl,  $p < 0,05$ ) dan vitamin E (dari  $926 \pm 65$   $\mu\text{g/dl}$  menjadi  $1863 \pm 154$   $\mu\text{g/dl}$ ,  $p < 0,05$ ), serta penurunan MDA secara signifikan (dari  $1,42 \pm 0,09$   $\mu\text{mol/L}$  menjadi  $0,91 \pm 0,05$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,05$ ).

Berdasarkan data perokok yang tinggi di Jakarta, lebih banyak mengonsumsi jenis rokok kretek filter yang mengandung kadar nikotin empat kali, tar dua sampai tiga kali, karbonmonoksida dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan rokok putih, disertai konsumsi buah dan sayuran yang rendah, maka akan dilakukan uji klinis pada pekerja laki-laki perokok kretek filter, di rumah makan, Jakarta Utara. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan rerata kadar MDA pada dua kelompok yaitu antara kelompok perlakuan (P) yang mendapat kombinasi suplementasi vitamin C 500 mg dan vitamin E 400 IU dengan kelompok kontrol (K) yang mendapat plasebo.



## **1.2. Permasalahan**

### **1.2.1. Identifikasi masalah**

- Terdapat peningkatan prevalensi PKV di Indonesia
- Jumlah perokok di Indonesia meningkat dari tahun ke tahun
- Rokok yang terbanyak dikonsumsi di Jakarta adalah rokok kretek, terutama kretek filter, dimana kadar nikotin empat kali, tar dua sampai tiga kali, karbonmonoksida dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan rokok putih
- Merokok meningkatkan aktivitas peroksidasi lipid sehingga akan meningkatkan risiko terjadinya PKV
- Terdapat kadar vitamin C dan vitamin E yang rendah, serta kadar MDA yang tinggi pada perokok

### **1.2.2. Rumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, ditetapkan perumusan masalah sebagai berikut:

Apakah setelah pemberian suplementasi vitamin C 500 mg dikombinasikan dengan vitamin E 400 IU per hari selama empat minggu berturut-turut pada perokok kretek filter di Jakarta, terdapat perbedaan rerata kadar MDA plasma secara bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol?

## **1.3. Hipotesis**

Setelah pemberian suplementasi vitamin C 500 mg dikombinasikan dengan vitamin E 400 IU per hari selama empat minggu berturut-turut pada perokok kretek filter di Jakarta, terdapat perbedaan rerata kadar MDA plasma secara bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

#### **1.4. Tujuan**

##### **1.4.1. Tujuan umum**

Mengetahui efek suplementasi vitamin C dan E, terhadap kadar MDA plasma sebagai upaya untuk menurunkan risiko terjadinya aterosklerosis pada perokok kretek filter.

##### **1.4.2. Tujuan khusus**

1. Diketuainya karakteristik subyek penelitian berdasarkan usia, konsumsi rokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa puasa, kadar kolesterol total pada kelompok perlakuan & kontrol.
2. Diketuainya status gizi berdasarkan indeks massa tubuh (IMT) pada delapan hari sebelum suplementasi (H-8) & hari ke 29 (H29) masa perlakuan pada kelompok perlakuan & kontrol.
3. Diketuainya asupan energi dibandingkan kebutuhan; proporsi asupan protein, lemak, karbohidrat, terhadap total energi, serta vitamin C, E pada awal dan akhir perlakuan dengan metode *food record* (dua kali per minggu).
4. Diketuainya perbedaan rerata kadar MDA plasma kelompok perlakuan & kontrol pada akhir perlakuan.

#### **1.5. Manfaat**

##### **1.5.1. Untuk subyek penelitian**

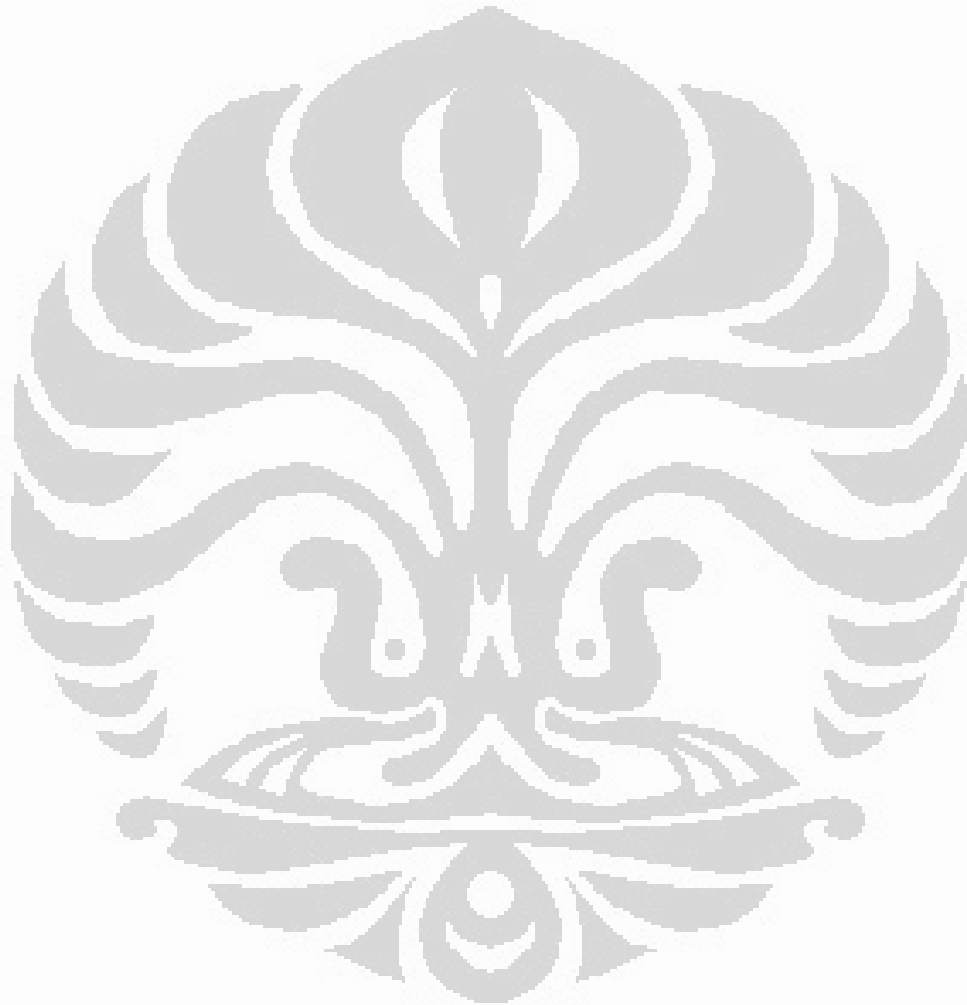
Subyek penelitian diharapkan dapat memperoleh manfaat dari pemberian suplementasi vitamin C dan E dalam mengurangi peroksidasi lipid sebagai upaya untuk menurunkan risiko terjadinya aterosklerosis pada perokok kretek filter, meskipun akan tetap lebih baik jika kebiasaan merokok dihentikan.

##### **1.5.2. Untuk institusi**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai landasan atau bahan rujukan bagi penelitian selanjutnya.

### **1.5.3. Untuk peneliti**

Diharapkan peneliti dapat menerapkan pengetahuan yang didapat selama kuliah dan melatih cara berpikir serta membuat penelitian dengan metodologi penelitian yang baik dan benar.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Radikal bebas

Radikal bebas adalah gugusan atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya. Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan instabilitas dan bersifat reaktif. Hilang atau bertambahnya satu elektron pada molekul lain menciptakan radikal bebas baru dan mengakibatkan perubahan dramatis secara fisik dan kimiawi. Radikal bebas terbentuk sebagai hasil metabolisme normal dalam sel atau sebagai respon terhadap pengaruh asap rokok, radiasi dan polusi lingkungan.<sup>15</sup>

Dalam keadaan normal di dalam tubuh terjadi keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Keseimbangan tersebut menjadi terganggu bila terjadi infeksi, radiasi, trauma, aktifitas fisik yang berat atau keadaan lain seperti perokok, diabetes melitus (DM), dan dislipidemia. Keadaan ini akan menimbulkan terjadinya stres oksidatif dan selanjutnya akan meningkatkan peroksidasi lipid.<sup>16</sup>

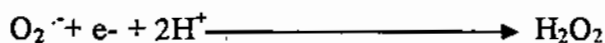
Secara garis besar reaksi radikal bebas terjadi melalui 3 fase yaitu fase inisiasi, dimana merupakan fase pembentukan radikal bebas, fase propagasi yang merupakan reaksi rantai radikal dan fase terminasi yaitu reaksi dengan radikal lain atau dengan *scavenger* radikal yang mempunyai potensi rendah untuk propagasi selanjutnya.<sup>17,18</sup>

Proses pembentukan radikal bebas biasanya melalui serangkaian reaksi :

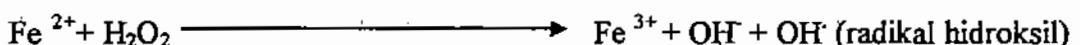
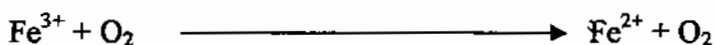
Reduksi oksigen



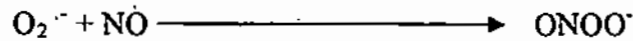
- Radikal superoksida mengambil elektron disekitarnya dan bereaksi dengan 2 proton



- Reaksi fenton



Radikal bebas bekerja dengan cara bereaksi dengan radikal, di mana jika 2 radikal bebas bertemu, maka elektron yang tidak berpasangan dapat bergabung dengan membuat ikatan kovalen. Misalnya pada reaksi anion superoksida dengan *nitric oxide* (NO) yang akan menghasilkan peroksinitrit:



Pada pH fisiologis, peroksinitrit dapat merusak protein secara langsung dan dapat bereaksi dengan karbondioksida membentuk transmitter yang tidak stabil yang bertindak sebagai radikal bebas hidroksil. Sebagian besar molekul dalam tubuh manusia bukan radikal, tetapi radikal bebas yang ada bersifat reaktif dan bila bereaksi dengan senyawa non radikal akan membentuk radikal bebas yang baru. Hal ini dapat terjadi pada reaksi radikal bebas terhadap membran atau lipoprotein yang dimulai dengan reaksi yang disebut peroksidasi lipid.<sup>16,18</sup>

### 2.1.1. Peroksidasi lipid dan malondialdehid (MDA)

Radikal bebas yang terbentuk dari proses oksidasi maupun dari asap rokok dapat bereaksi dengan Asam Lemak Tak Jenuh Ganda (ALTJG) pada membran sel maupun lipoprotein plasma seperti LDL. Proses ini dikenal sebagai peroksidasi lipid. Mekanisme peroksidasi lipid dimulai dari tahap inisiasi, seperti radikal hidroksil yang menarik hydrogen dari *polyunsaturated lipid* (LH), sehingga menghasilkan radikal lipid (L<sup>•</sup>).



Pada tahap propagasi, reaksi rantai radikal bebas dipropagasi dengan penambahan O<sub>2</sub>, sehingga terbentuk radikal peroksil (LOO<sup>•</sup>) dan lipid peroksida (LOOH).

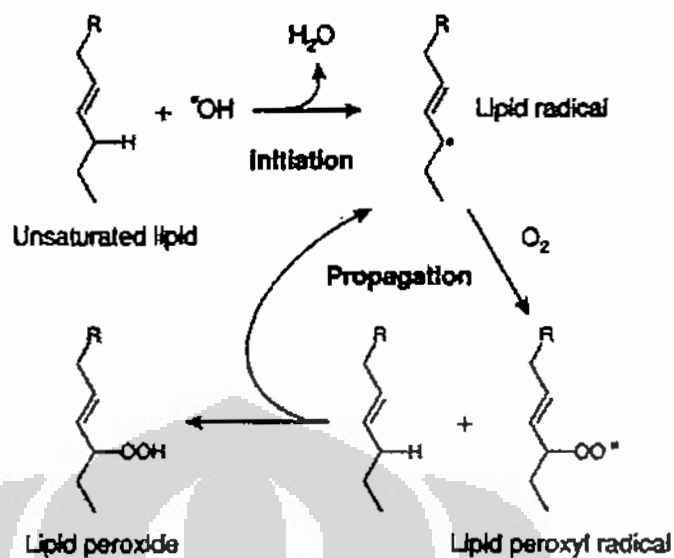


Pada tahap terminasi radikal peroksil akan bereaksi dengan radikal lipid lain dan membentuk peroksida lipid (LOOH).



Selanjutnya akan terjadi degradasi lipid yang menghasilkan antara lain MDA.<sup>19,20</sup>





Gambar 2.1. Peroksidasi lipid<sup>21</sup>

Reaksi berantai dapat dihentikan oleh vitamin E, yang bertindak sebagai donor elektron. Vitamin E akan memberikan elektron dalam dua tahap berurutan dan akan menghasilkan senyawa teroksidasi yang stabil. Vitamin E radikal (tokoferol radikal) akan diregenerasi oleh asam askorbat, sehingga menghasilkan dehidroaskorbat. Dehidroaskorbat akan diregenerasi menjadi askorbat oleh glutathione melalui proses katalisis oleh dehidroaskorbat reduktase. Beberapa faktor dapat mempengaruhi aktivitas peroksidasi lipid seperti merokok, DM, dislipidemia, aktivitas fisik, kadar antioksidan eksogen seperti vitamin C, E.<sup>19</sup>

### 2.1.2. Malondialdehid (MDA)

Salah satu produk hasil oksidasi lipid adalah malondialdehid, dengan rumus molekul  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$ .<sup>17,19</sup> Kadar MDA plasma dapat diperiksa dengan teknik spektrofotometri. Belum ada nilai normal yang digunakan sebagai patokan untuk menentukan kadar MDA plasma. Malondialdehid dalam jumlah tinggi dapat dideteksi pada waktu terjadi degradasi sel atau bila sel-sel tubuh mengalami trauma. Sebagai contoh, peningkatan jumlah MDA ditemukan pada penderita diabetes, aterosklerosis dan peradangan.<sup>22</sup>

### 2.1.3. Rokok sebagai sumber radikal bebas

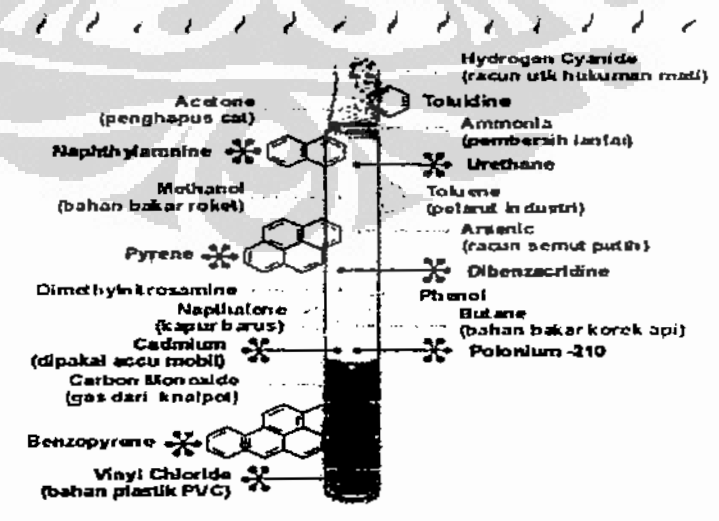
Rokok merupakan sumber radikal bebas bagi tubuh, peningkatan konsumsi rokok dapat menurunkan kadar antioksidan plasma. Perokok memiliki kadar vitamin C & E yang lebih rendah 15-20% dibanding bukan perokok. Pada orang sehat, radikal bebas yang terbentuk dapat dinetralisir dengan mekanisme pertahanan antioksidan, tetapi pada perokok, mekanisme untuk menetralkan radikal bebas terganggu, karena deplesi dari antioksidan dalam nutrien oleh rokok dan hal ini menyebabkan terjadinya stres oksidatif.<sup>23,24,25</sup>

Lebih dari 4.000 jenis zat kimia dijumpai dalam rokok. Dengan demikian, komponen asap rokok yang dihisap oleh perokok terdiri dari bagian gas (85%) dan bagian partikel.

Tabel 2.1. Daftar Bahan Kimia yang Terdapat dalam Asap Rokok yang Dihisap :

No.	Bagian Partikel	Bagian Gas
1	Tar	Karbonmonoksida
2	Indol	Amonia
3	Nikotin	Hidrogen sianida
4	Karbarzol	Nitrogen oksida
5	Kresol	Formaldehid

Sumber : referensi no 26



Gambar 2.2. Senyawa dan gugus kimia rokok<sup>27</sup>

### 2.1.3.1. Mekanisme terbentuknya radikal bebas dalam rokok

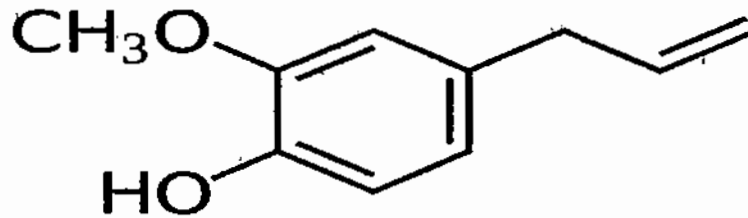
Gas dari asap rokok mengandung radikal bebas oksigen dan karbon yang cukup reaktif, serta mempunyai waktu paruh dalam hitungan menit. Komponen gas pada rokok banyak mengandung NO yang akan bereaksi dengan oksigen membentuk nitrogen dioksida ( $\text{NO}_2$ ), selanjutnya bereaksi dengan hidrokarbon membentuk radikal peroksil. Nitrogen dioksida dan nitrogen oksida dapat bereaksi dengan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) menghasilkan radikal hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ). Selain itu NO beraksi sangat cepat dengan radikal superoksida ( $\text{O}_2^\cdot$ ) untuk membentuk peroksinitrit ( $\text{ONOO}^\cdot$ ) dan dengan radikal peroksil (dari asap rokok), membentuk alkil peroksinitrit ( $\text{ROONO}^\cdot$ ).<sup>28</sup>

### 2.1.4. Rokok kretek

Kretek dikenal juga dengan nama *cigarettes* cengkeh, diproduksi terutama di Indonesia. Perokok di Indonesia mengonsumsi rokok kretek lebih banyak dibandingkan konsumsi rokok putih. Bahaya yang ditimbulkan rokok kretek hampir sama dengan rokok putih yang biasa dikonsumsi di negara lain, namun demikian ada beberapa yang khas dimana cengkeh menimbulkan aroma yang enak, sehingga menutup faktor bahaya tembakau.<sup>29</sup>

#### 2.1.4.1. Kandungan rokok kretek

Rokok kretek berasal dari 60% tembakau dan 40% cengkeh, memiliki rasa manis dan bau yang enak. Rata-rata rokok kretek mengandung nikotin sebesar 1,2-4,5 mg, tar 46,8 mg, karbonmonoksida 28,3 mg. Kadar ini jauh lebih tinggi dibandingkan dengan rokok putih yang biasa dikonsumsi di negara lain dimana kadar nikotin 1,1 mg, tar 16,3 mg, karbonmonoksida 15,5 mg. Ada pula zat aktif tambahan yang terdapat dalam rokok kretek yaitu eugenol, dimana komponen ini dapat juga ditemukan pada minyak cengkeh alami.<sup>30,31</sup>



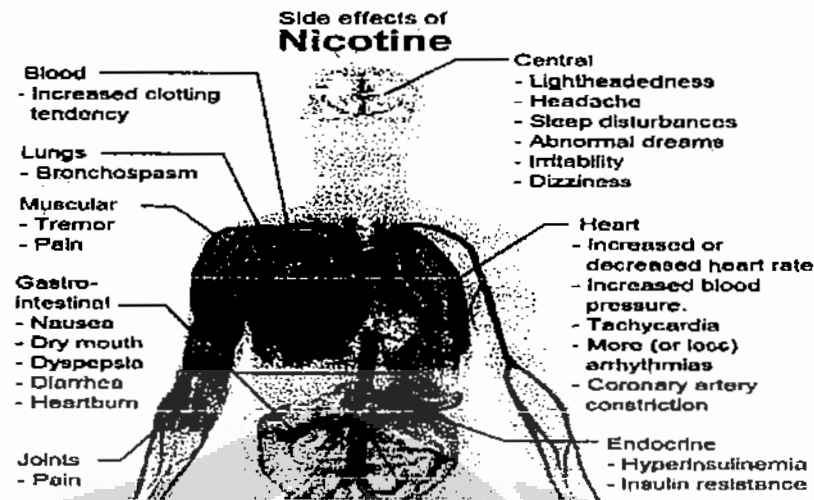
Gambar 2.3. Struktur kimia Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol)<sup>32</sup>

Eugenol dan derivatnya berefek pada sistem saraf pusat sebagai anti kejang. Efek toksik pada saraf dapat menyebabkan *mild euphoria*. Absorpsi tubuh ke paru, distribusi eugenol dalam tubuh, serta efek jangka pendek dan jangka panjang terhadap tubuh belum banyak diketahui hingga kini. Data *acute respiratory disorder*, penyakit paru, penyakit jantung pada perokok kretek masih jarang didapatkan dan mekanismenya pun masih belum jelas.<sup>33</sup>

#### 2.1.4.2. Nikotin

Komponen ini paling banyak dijumpai di dalam rokok.<sup>34</sup> Nikotin dapat meningkatkan tekanan darah, menyebabkan ketagihan serta ketergantungan pada pemakainya. Kadar nikotin 4-6 mg yang dihisap oleh orang dewasa setiap hari sudah bisa membuat orang kecanduan.<sup>35</sup>

Nikotin menyebabkan perokok merasakan nikmat, lebih tenang, daya pikir serasa lebih cemerlang, dan mampu menekan rasa lapar. Pada penelitian Malson dkk<sup>33</sup> didapatkan data penurunan nafsu makan pada kelompok yang mengonsumsi rokok kretek dibandingkan dengan rokok putih ( $p < 0,01$ ).



Gambar 2.4. Efek samping nikotin<sup>36</sup>

#### 2.1.4.3. Karbonmonoksida (CO)

Gas CO adalah sejenis gas yang tidak memiliki bau. Unsur ini dihasilkan oleh pembakar yang tidak sempurna dari unsur zat arang atau karbon. Gas karbonmonoksida memiliki kecenderungan yang kuat untuk berikatan dengan hemoglobin dalam sel-sel darah merah. Kadar gas CO bukan perokok kurang dari 1%. Sementara dalam darah perokok mencapai 4-15%.<sup>26,26,34</sup>

#### 2.1.4.4. Tar

Tar adalah suatu senyawa *polimuklin* hidrokarbon aromatika, bersifat lengket dan menempel pada paru-paru yang bersifat karsinogenik dan dapat menyebabkan penyakit pada saluran pernafasan. Kadar tar dalam rokok berkisar 24-45 mg. Sedangkan bagi rokok yang menggunakan filter dapat mengalami penurunan 5-15 mg.<sup>37</sup>

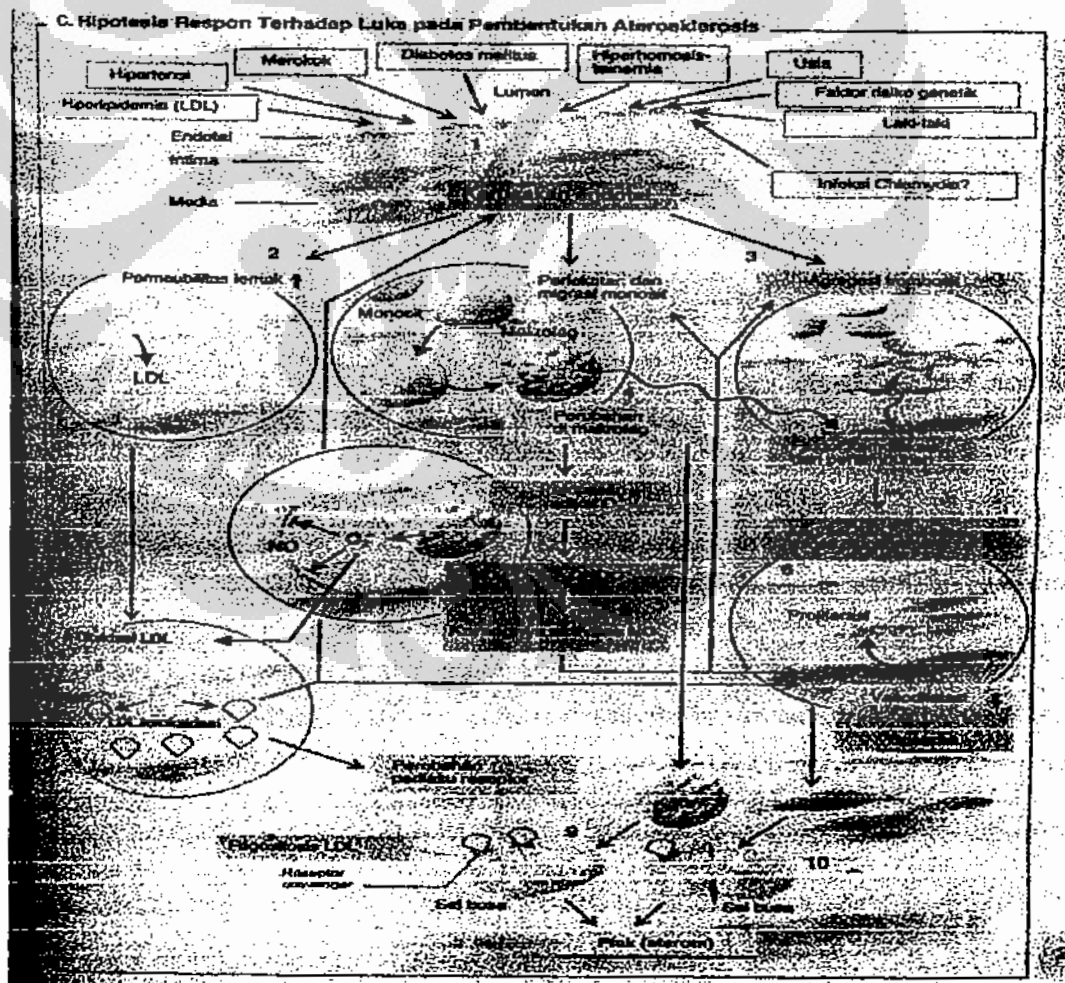
#### 2.1.5. Rokok dan aterosklerosis

Aterosklerosis adalah penyakit degeneratif endotel pembuluh darah yang ditandai dengan penebalan dan penyempitan dinding arteri akibat proses inflamasi serta akumulasi kolesterol teroksidasi, sel-sel otot polos dan fibroblas pada tunika intima. Aterosklerosis merupakan penyebab utama penyakit kardiovaskular (PKV).<sup>38</sup> Faktor risiko aterosklerosis ada yang tidak dapat diubah seperti usia, jenis kelamin, etnis, genetik, serta yang dapat diubah seperti hiperkolesterolemia,

hipertensi, diabetes melitus, aktifitas fisik kurang, obesitas, dan merokok.<sup>39</sup> Reaksi terbentuknya plak adalah peningkatan ambilan lemak di dinding pembuluh darah serta adhesi monosit dan trombosit. Monosit akan masuk ke intima dan dirubah menjadi makrofag. Proses ini menyebabkan pelepasan radikal  $O_2$  yang reaktif, terutama  $O_2^{\cdot -}$ . Radikal ini memiliki efek merusak sel endotel dan menginaktifkan NO yang dibentuk oleh endotel, disepanjang perjalanannya ke endotel dan otot pembuluh darah. Hambatan pada vasodilatasi mendorong terjadinya spasme. Bahkan pada stadium awal aterosklerosis, radikal  $O_2$  diubah melalui oksidasi oleh LDL yang telah memasuki endotel. Oksidasi juga akan menyebabkan perubahan ikatan LDL. LDL tidak lagi dikenali oleh reseptor Apo B 100, namun dikenali oleh reseptor *scavenger* yang sebagian besar terdapat dalam makrofag. Akibatnya makrofag akan memfagosit LDL dan berubah menjadi sel busa yang menetap. Secara bersamaan, faktor kemotaksis monosit dan trombosit akan memicu perpindahan sel otot polos dari tunika media ke dalam tunika intima. Di intima, sel tersebut akan dirangsang untuk berproliferasi oleh *platelet derived growth factor* (PDGF) dan berbagai faktor peningkat pertumbuhan lainnya (dari makrofag, trombosit, endotel yang rusak, dan sel otot sendiri). Sel otot juga akan diubah menjadi sel busa dengan mengambil LDL teroksidasi. Sel busa akan membentuk matriks ekstrasel (kolagen, elastin, proteoglikan) yang juga berperan dalam pembentukan ateroma.<sup>17,40,41</sup>

Pada pasien dengan aterosklerosis, disfungsi vasodilatasi endotel terjadi pada aliran darah, tahanan pembuluh darah dan mikrosirkulasi. Inaktivasi NO yang berlebihan karena stres oksidatif terdapat pada perokok, pasien DM, dan hiperkolesterolemia. NO menghambat proses yang menyebabkan kerusakan endotel, seperti aktivasi *Nuclear Factor-kappa B* (NF- $\kappa$ B), kemotaksis dan monosit, pembentukan sel busa, adhesi trombosit dan leukosit, hiperplasia intima, proliferasi dan migrasi sel otot polos, serta ekspresi molekul-molekul adhesi *vascular cell adhesion molecules* (VCAM), *intracellular adhesion molecules* (ICAM), dan selektin-E.<sup>7</sup>

Rokok dapat menimbulkan masalah kesehatan seperti PKV dan hal ini berkaitan dengan disfungsi endotel. Meskipun mekanisme bagaimana rokok menyebabkan disfungsi endotel belum diketahui secara pasti, tapi dari penelitian eksperimental yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa hal ini terjadi karena peranan radikal bebas. Peningkatan konsumsi rokok akan meningkatkan jumlah radikal bebas dan hal tersebut dapat meningkatkan aktivitas peroksidasi lipid pada membran sel endotel pembuluh darah dan kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) di sub intima. Fraksi LDL menjadi rentan untuk mengalami oksidasi oleh radikal bebas serta menurunkan jumlah antioksidan endogen sehingga LDL akan lebih mudah ditangkap oleh makrofag. Oksidasi LDL merupakan awal terbentuknya sel busa (*foam cell*) yang berubah menjadi alur lemak (*fatty streak*), kemudian berkembang membentuk plak aterosklerosis.<sup>7,42,43</sup>



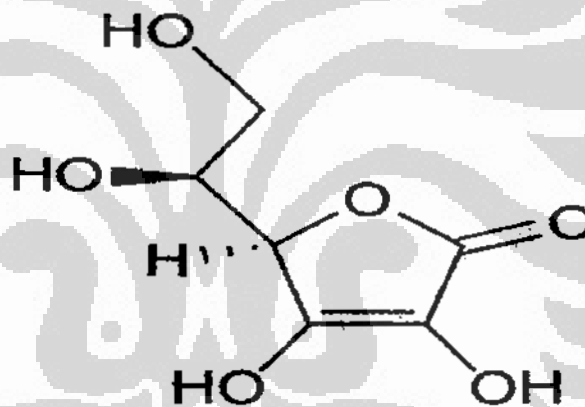
Gambar 2.5. Hipotesis respon terhadap luka pada pembentukan aterosklerosis<sup>44</sup>

## 2.2. VITAMIN C

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*). Senyawa ini merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel.<sup>45</sup>

### 2.2.1. Sifat kimia dan fisik

Senyawa alamiah utama yang mempunyai aktivitas vitamin C adalah asam L-askorbat ( $C_6H_8O_6$ , BM 176,13). Dalam keadaan murni, vitamin C berbentuk kristal padat putih yang tidak berbau, stabil, mudah larut dalam air, sedikit larut etanol, dan tidak larut pada pelarut organik. Vitamin C dapat dioksidasi menjadi asam L-dehidroaskorbat dan kehilangan dua atom hidrogen, terutama jika terpapar cahaya, pemanasan, dan jika berada dalam suasana alkalis.<sup>15,46</sup>



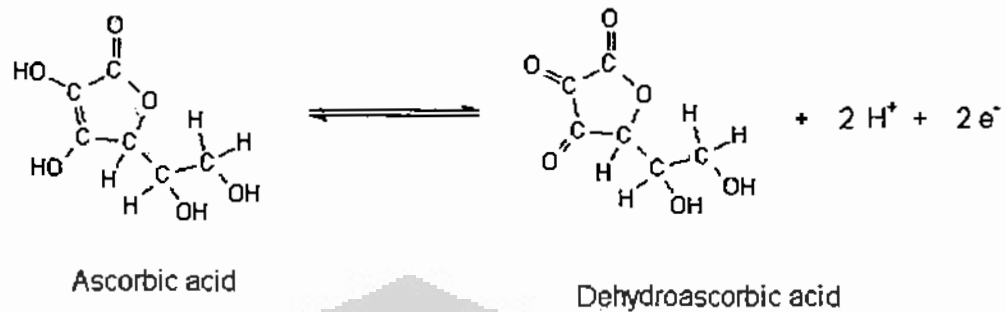
Gambar 2.6. Struktur kimia vitamin C<sup>47</sup>

### 2.2.2. Absorpsi dan metabolisme

Absorpsi vitamin C terjadi di usus halus bagian proksimal dengan sistem transpor aktif. Absorpsi ini tergantung dari asupan dan kadar askorbat dalam usus. Untuk mempermudah penyerapan, vitamin C akan mengalami perubahan bentuk menjadi *dehydroascorbic acid* (DHAA) (gambar 2.7), bentuk DHAA ini akan lebih cepat melewati membran sel dibandingkan dengan *ascorbic acid* (AA). DHAA akan diabsorpsi melalui proses mekanisme pasif. Setelah mencapai epitel intestinal atau bagian sel lainnya, DHAA akan diubah kembali menjadi AA. Asam dehidroaskorbat yang terdapat dalam darah dapat masuk kembali ke dalam sel



melalui membran basolateral, dan dikembalikan lagi ke dalam darah dalam bentuk asam askorbat.



Gambar 2.7. Oksidasi vitamin C<sup>48</sup>

AA akan diserap sempurna apabila jumlah asupan di bawah 30 mg/hari, rata-rata vitamin C yang berasal dari makanan sejumlah 30-180 mg/hari akan diabsorpsi sebesar 70-90%. Apabila jumlah vitamin C yang dikonsumsi berlebihan (1-1,5 g/hari), efisiensi absorpsi akan turun menjadi 50%. Turunnya efisiensi absorpsi ini terjadi karena penyerapan vitamin C dengan dosis tinggi dilakukan melalui mekanisme difusi yang sederhana dengan kecepatan difusi sangat rendah.

Distribusi vitamin C dalam tubuh tidak merata, konsentrasi tertinggi didapatkan pada adrenal dan hipofise, sedangkan di otak, lensa mata, hati, limpa, pankreas dalam jumlah kecil.<sup>49</sup>

Tabel 2.2. Kadar vitamin C di jaringan dan cairan tubuh

Spesimen	Vitamin C (mg/100g basah)
Kelenjar pituitari	40-50
Kelenjar adrenal	30-40
Lensa mata	25-31
Otak	13-15
Hati	10-16
Limpa dan pankreas	10-15
Ginjal	5-15
Paru-paru	7
Otot	3-4
Testis	3
Cairan serebrospinal	3,8
Tiroid	2
Plasma	0,4-1
Saliva	0,07-0,09

Sumber : referensi nomor 9

Bila asupan vitamin C harian berada dalam batas yang normal, maka hampir setengah dari metabolit vitamin C dalam urin muncul sebagai asam oksalat sedangkan sisanya dalam bentuk asam askorbat, asam dehidroaskorbat, 2,3-diketoglutarat dan askorbat 2-sulfat. Pada saat asupan vitamin C harian sangat berlebihan, ekskresi asam oksalat dalam urin hanya sedikit meningkat, sedangkan sebagian besar dari vitamin diekskresikan sebagai vitamin C utuh (tidak dimetabolisme).<sup>50</sup>

### 2.2.3. Vitamin C sebagai antioksidan

Vitamin C bekerja sebagai antioksidan larut air utama dalam cairan tubuh, karena sifat inilah maka askorbat dapat menghambat aktivitas radikal bebas sebelum radikal tersebut mencapai membran seluler. Antioksidan ini dapat mengurangi efek merugikan dari *reactive oxygen species (ROS)*, *reactive nitrogen species (RNS)*, atau keduanya agar fungsi fisiologis tubuh dapat berjalan secara normal. (Tabel 2.3)

Tabel 2.3. Spesies oksigen reaktif dan nitrogen reaktif yang dapat diredam oleh askorbat<sup>15</sup>

---

Jenis radikal yang diredam oleh askorbat

---

Spesies oksigen reaktif

Radikal hidroksil (OH<sup>•</sup>)

Radikal alkoksil (RO<sup>•</sup>)

Radikal peroksil (RO<sub>2</sub><sup>•</sup>)

Anion supcroksida/ radikal hidropcroksil (O<sub>2</sub><sup>-•</sup>/HO<sub>2</sub><sup>•</sup>)

Asam hipoklorous (HOCl)

Ozon (O<sub>3</sub>)

Oksigen singlet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

Spesies nitrogen reaktif

Nitrogen dioksida (NO<sub>2</sub>)

Dinitrogen trioksida dinitrogen tetoksida (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) Nitroksida (NO)

Peroksinitrit/ asam peroksinitrat (ONOO<sup>-</sup>/ ONOOH) Radikal α-tokoferol (α-TO<sup>•</sup>)

Radikal til/ sulfenil (RS/ RSOD)

---

Vitamin C dapat mengurangi peroksidasi lipid dan memproteksi LDL ekstrasel dari oksidasi. Vitamin C sebagai antioksidan larut air juga dapat meregenerasi antioksidan larut lemak α-tokoferol (vitamin E) yang teroksidasi. Oleh karena tokoferol juga mencegah oksidasi LDL, maka *recycling* tokoferol teroksidasi oleh vitamin C memegang peranan penting dalam pencegahan aterosklerosis. Peran vitamin C sebagai koantioksidan ini penting, karena

penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa bila tidak terdapat koantioksidan seperti vitamin C, maka  $\alpha$ -tokoferol dapat bekerja sebagai prooksidan.

#### 2.2.4. Kebutuhan, defisiensi, dan toksisitas

Sebagai usaha pencegahan, jumlah asupan vitamin C yang direkomendasikan di Inggris (1991) adalah 40 mg per hari untuk pria dan wanita. *Dietary Recommended Intake* (DRI) Amerika Serikat (2000) menyarankan sejumlah 90 mg bagi pria dan 75 mg bagi wanita. Dosis yang sama juga disarankan oleh Angka Kecukupan Gizi (AKG) Indonesia (2005). Angka kecukupan vitamin C bagi perokok masih sering diperdebatkan. Pada penelitian Schectman<sup>51</sup>, bagi para perokok disarankan untuk konsumsi vitamin C 100-200 mg/hari.

Tabel 2.4. Angka Kecukupan Gizi (AKG) yang dianjurkan untuk vitamin C

Golongan umur	AKG (mg/hari)	Golongan umur	AKG (mg/hari)
<b>Anak</b>		<b>Wanita</b>	
0-6 bulan	40	10-12 tahun	50
7-11 bulan	50	13-15 tahun	65
1-3 tahun	40	16-18 tahun	75
4-6 tahun	45	19-29 tahun	75
7-9 tahun	45	30-49 tahun	75
<b>Laki-laki</b>		50-64 tahun	75
10-12 tahun	50	≥65 tahun	75
13-15 tahun	75	<b>Hamil</b>	
16-18 tahun	90	Trimester 1	10
19-29 tahun	90	Trimester 2	10
30-49 tahun	90	Trimester 3	10
50-64 tahun	90	<b>Menyusui</b>	
≥65 tahun	90	6 bulan pertama	25
		6 bulan kedua	25

Sumber : referensi no 52

Defisiensi vitamin C ringan dapat menimbulkan keluhan seperti rasa lelah, anoreksia, nyeri otot sedangkan defisiensi berat menimbulkan penyakit skorbut.

Konsumsi melebihi batas teratas vitamin C (*upper intake level* UL = 2000 mg/hari), dapat memberikan efek samping berupa mual, kram abdomen, diare, dan perdarahan hidung.<sup>46</sup>

### 2.2.5. Penilaian status vitamin C

Untuk menilai kadar vitamin C digunakan pemeriksaan kadar vitamin C di plasma, leukosit, sel mononuklear (limfosit dan monosit), eritrosit, urin atau sel mukosa bukal dan saliva. Pemeriksaan yang paling sering digunakan adalah pemeriksaan kadar vitamin C plasma/ serum.<sup>12</sup>

Tabel 2.5. Pedoman penilaian pengukuran status vitamin C secara biokimia

Status vitamin C	Plasma ( $\mu\text{mol/L}$ )	Leukosit campuran ( $\text{nmol}/10^8\text{sel}$ )	Leukosit mononuklear ( $\text{nmol}/10^8\text{sel}$ )
Adekuat	>23	>114	>142
Rendah	11,4-23	57-114	114-142
Defisiensi	<11,4	<57	<114

Sumber : referensi no 12

### 2.2.6. Bahan makanan sumber

Vitamin C dapat ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran seperti jeruk, jambu, tomat, bayam, dan brokoli. Proses pemanasan suhu tinggi dan penyimpanan dapat merusak vitamin C, sehingga dianjurkan untuk mengonsumsi vitamin C dalam keadaan segar.<sup>12</sup>

Tabel 2.6 Nilai vitamin C dalam buah dan sayuran segar (mg/100 gram)

Buah dan sayuran	Vitamin C(Mg)
Jambu	87
Strawberi	40-70
Anggur	30-70
Jeruk	30-50
Pepaya	39
Apel	3-30
Nanas	15-25
Mangga	10-15
Pisang	8-16
Tomat	10-20
Brokoli	80-90
Kubis	30-70
Bayam	35-40

Sumber : referensi no 53

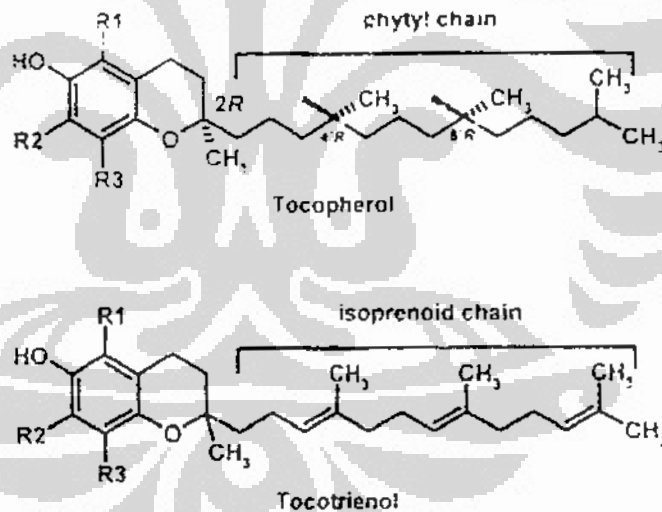
## 2.3. VITAMIN E

Vitamin E merupakan golongan vitamin larut lemak. Awalnya vitamin ini dianggap sebagai zat yang dapat mencegah keguguran dan sterilitas pada tikus. Tokoferol ini berasal dari bahasa Yunani, *tokos* yang artinya kelainan dan *phrein* yang berarti menyebabkan.

### 2.3.1. Struktur dan sifat kimia

Vitamin E merupakan nama generik kelompok derivat tumbuhan yang larut dalam lemak dan terdiri dari 2 kelompok isomer yaitu tokoferol dan tokotrienol.<sup>54,55,56</sup>

Terdapat 4 macam tokoferol yaitu  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  yang berbeda pada nomor dan posisi gugus metil cincin kroman (gambar 2.10).<sup>57,58,59</sup> Tokoferol terdiri dari cincin kroman dan rantai fitil jenuh yang panjang. Tokotrienol juga terdiri dari  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , yang mempunyai cincin kroman yang sama dengan tokoferol tetapi rantai sampingnya tak jenuh dengan ikatan rangkap pada posisi 3', 7', dan 11'.<sup>60,61</sup> Secara alami isomer  $\alpha$ -tokoferol adalah RRR- $\alpha$ -tokoferol (d- $\alpha$ -tokoferol) yang memiliki aktivitas biologis dan bioavailabilitas tertinggi, dan hanya disintesis oleh tumbuh-tumbuhan sedangkan vitamin E sintesis terdiri dari 8 stereoisomer dan dikenal dengan *all-rac- $\alpha$ -tokoferol* atau dl- $\alpha$ -tokoferol.<sup>55</sup>



The four isoforms of tocopherols and tocotrienols:

$\alpha$ -:	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{CH}_3$
$\beta$ -:	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{H}$	$R_3 = \text{CH}_3$
$\gamma$ -:	$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{CH}_3$
$\delta$ -:	$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{H}$	$R_3 = \text{CH}_3$

Gambar 2.8. Struktur vitamin E<sup>58</sup>

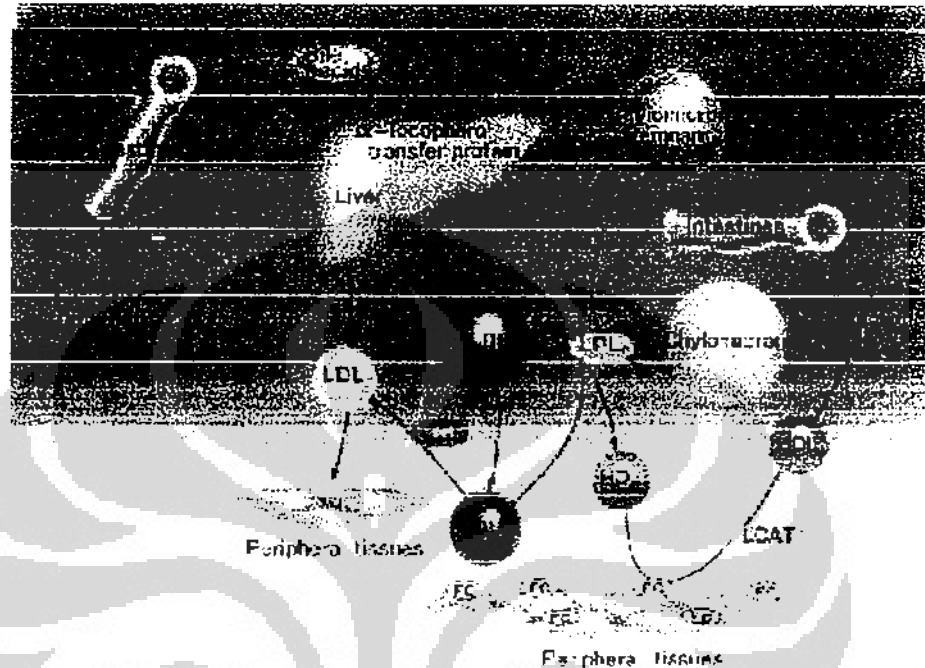
Vitamin E merupakan vitamin larut lemak yang bersifat tahan terhadap pemanasan dan asam, tidak tahan terhadap suasana alkali, sinar ultraviolet dan oksigen. Vitamin E akan rusak bila lemak menjadi tengik dan bila terdapat mineral plumbum dan besi.<sup>62</sup>

### 2.3.2. Absorpsi, metabolisme dan ekskresi

Vitamin E masuk ke tubuh dalam bentuk bebas (tokoferol) dan ester (tokotrienol). Bentuk bebas umumnya berasal dari makanan sedang bentuk ester berasal dari suplemen vitamin E. Bentuk ester terlebih dahulu akan dihidrolisis menjadi tokoferol oleh enzim esterase pankreas dan esterase intraseluler dalam sel-sel mukosa usus.<sup>60,63,64</sup> Adanya sekresi empedu kemudian akan mengemulsi tokoferol, kolesterol, triasilgliserol dan asam lemak membentuk misel-lipid agar dapat diabsorpsi. Absorpsi terjadi secara difusi pasif terutama di bagian atas dan sepertiga tengah usus halus. Daya absorpsi tokoferol dan tokotrienol dalam makanan bervariasi sekitar 20%-80% dan akan menurun bila terjadi peningkatan asupan vitamin E.<sup>60</sup> Adanya *medium chain triglyceride* (MCT) akan meningkatkan absorpsi sedangkan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) menghambat absorpsinya, yang diduga melalui interaksi kimiawi antara  $\alpha$ -tokoferol dengan PUFA atau produk peroksidasinya dalam lumen usus.<sup>54,60</sup>

Di dalam enterosit tokoferol akan bergabung dengan lipid lain membentuk kilomikron yang kemudian akan disekresi ke saluran limfe. Kilomikron akan dikatabolisme oleh enzim lipoprotein lipase (LPL), sebagian tokoferol akan dipindahkan ke lipoprotein lain atau dibawa ke jaringan perifer seperti otot, jaringan lemak dan otak. Sisanya berada dalam kilomikron remnan yang kemudian akan masuk ke hepar.<sup>55,65</sup> Di hepar, tokoferol dalam kilomikron remnan akan dibentuk kembali dengan bantuan  $\alpha$ -tokoferol transfer protein ( $\alpha$ -TTP) dalam *very low density lipoproteins* (VLDL). Protein ini memiliki afinitas tertinggi terhadap bentuk RRR, akibatnya VLDL yang disekresi oleh hati banyak mengandung RRR- $\alpha$  tokoferol.  $\alpha$ -TTP mengatur kadar  $\alpha$ -tokoferol dengan memfasilitasi reinkorporasi  $\alpha$ -tokoferol ke dalam VLDL dan mencegah katabolismenya.<sup>54,58</sup> Di dalam sirkulasi darah, VLDL kemudian akan dihidrolisa membentuk LDL yang akan membawa sejumlah besar tokoferol plasma dan

sisanya dipertukarkan dengan HDL. Tokoferol dalam LDL kemudian akan diambil secara langsung oleh reseptor LDL jaringan yang berada pada permukaan membran sel (Gambar 2.9).<sup>66,67</sup>



Gambar 2.9. Jalur metabolisme vitamin E.<sup>68</sup>

Ekskresi vitamin E terutama melalui feses yang berasal dari vitamin E yang tidak diabsorpsi, sekresi vitamin yang dilepaskan oleh enterosit ke dalam lumen usus, dan dari deskuamasi sel intestinal.<sup>55,57</sup>

Kandungan  $\alpha$ -tokoferol dalam jaringan berbeda-beda (tabel 2.7). Tidak ada jaringan tubuh yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan  $\alpha$ -tokoferol yang kemudian dapat melepaskannya ketika kadar dalam darah rendah.<sup>69</sup> Jaringan lemak/ adiposit merupakan tempat yang memiliki kadar vitamin E tertinggi. Dalam tubuh ada dua bentuk simpanan vitamin E, yaitu *labile pool* berupa cadangan dengan *turn over* tinggi seperti di plasma dan hati, dan *fixed pool* berupa cadangan dengan *turn over* lambat. Jaringan adiposa merupakan *fixed pool* vitamin E, dimana mobilisasinya sangat lambat dan membutuhkan waktu yang panjang, sehingga walaupun gambaran klinis defisiensi vitamin E telah tampak, kadarnya dalam jaringan adiposa dapat normal.<sup>61</sup>

Tabel 2.7. Kandungan vitamin E dalam jaringan

Jaringan	Kandungan vitamin E ( $\mu\text{g/g}$ )
Lemak	150
Adrenal	132
Pituitary	40
Testis	40
Platelet	30
Jantung	20
Otot	19
Hati	13
Ovarium	11
Plasma	9,5
Uterus	9
Ginjal	7
Sel darah merah	2,3

Sumber : referensi no 54

### 2.3.3. Fungsi dan mekanisme kerja

Vitamin E berperan dalam menjaga integritas membran sel dengan mencegah peroksidasi lemak. Peran utama dari vitamin E adalah melindungi PUFA dan komponen membran sel yang lain serta *low density lipoprotein* (LDL) dari oksidasi radikal bebas serta menginaktivasi molekul oksigen tunggal.<sup>70</sup> Tokoferol dalam menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas adalah dengan memutuskan rantai reaksi propagasi proses peroksidasi lipid dengan mendonorkan ion hidrogen dari cincin fenol ke radikal bebas pada tahap terminasi. Tokoferol (TocH) terdapat pada membran sel dan dapat bereaksi dengan radikal peroksil ( $\text{LOO}\cdot$ ) sebelum radikal tersebut berinteraksi dengan asam lemak pada membran sel atau komponen sel lainnya, menghasilkan lipid peroksida yang tidak radikal ( $\text{LOOH}$ ) serta tokoferol teroksidasi (Toc).



Tokoferol teroksidasi harus diregenerasi agar dapat digunakan kembali. Antioksidan lain seperti vitamin C, glutathion mempunyai kemampuan meregenerasi antioksidan  $\alpha$ -tokoferol.

Tokoferol memiliki kemampuan menginaktivasi *singlet oxygen*, karena struktur fisik tokoferol yang memiliki gugus hidroksil hehas pada posisi ke 6 cincin kromanol. Inaktivasi tersebut secara fisik dengan mengubah *singlet oxygen* ( $^1\text{O}_2$ ) menjadi *triplet oxygen* ( $^3\text{O}_2$ ) dengan cara transfer energi.<sup>71, 72</sup>



### 2.3.4. Kebutuhan

Satuan suplementasi yang biasa digunakan adalah *International Unit* (IU). Suplemen vitamin E yang natural memiliki stereoisomer *RRR- $\alpha$ -tokoferol* yang dikenal dengan *d- $\alpha$ -tokoferol*, selain itu terdapat suplemen vitamin E sintetik (*all-rac- $\alpha$ -tokoferol*) yang dikenal dengan *d,l - $\alpha$ -tokoferol*. Setiap 1 IU  $\alpha$  tokoferol setara dengan 0,67 mg *RRR- $\alpha$ -tokoferol* atau 0,45 mg *all-rac- $\alpha$ -tokoferol*. 1 mg *RRR- $\alpha$ -tokoferol* ekuivalen dengan 1,49 IU *RRR- $\alpha$ -tokoferol* atau 2,22 IU *all-rac- $\alpha$ -tokoferol*. Jadi dalam sebuah suplemen vitamin E 400 IU mengandung 268 mg *d- $\alpha$ -tokoferol* atau mengandung 180 mg *d,l - $\alpha$ -tokoferol*.<sup>69,73</sup>

Tabel 2.8. Angka kecukupan gizi yang dianjurkan untuk vitamin E

Golongan umur	AKG (mg)	Golongan umur	AKG (mg)
Pria		wanita	
16 - 19 tahun	15	16 - 19 tahun	15
20 - 45 tahun	15	20 - 45 tahun	15
46 - 59 tahun	15	46 - 59 tahun	15
60 tahun	15	> 60 tahun	15
		hamil menyusui	15
		0 - 6 bulan	19
		7-12 bulan	19

Sumber : referensi no 74

### 2.3.5. Defisiensi dan toksisitas

Defisiensi vitamin E pada manusia dapat mengakibatkan neuropati perifer, miopati skeletal, berkurangnya umur eritrosit, gangguan sistem reproduksi dan kegagalan fungsi imun.<sup>75</sup>

Tingkat *Upper Limit* (UL) tokoferol untuk orang dewasa adalah 1000 mg/hari. Jika konsumsi vitamin E sangat tinggi >3200 mg/hari dapat menimbulkan gejala efek samping yang meliputi gangguan saluran cerna, kreatinuria dan gangguan pembekuan darah.<sup>71</sup>

### 2.3.6. Bahan makanan sumber

Sumber vitamin E terbanyak adalah minyak tumbuhan. Bentuk  $\alpha$ -tokoferol banyak terdapat pada minyak biji bunga matahari, kanola, zaitun, dan kecambah gandum ; sedang bentuk  $\gamma$ -tokoferol banyak dijumpai pada minyak jagung, kedelai,

kacang dan wijen. (tabel 2.9).<sup>58,76</sup>

Tabel 2.9. Makanan yang mengandung vitamin E

Makanan	Vitamin E (mg/100g)	Makanan	Vitamin E (mg/100g)
<b>Lemak dan minyak</b>		Daging sapi	0,3
Minyak gandum	137,0	Daging domba	0,2
Minyak palm	33,1	<b>Roti dan sereal</b>	
Minyak kacang	16,3	Gandum	22,6
Margarin	14,9	Tepung gandum	2,0
<b>Kacang</b>		Sereal	1,9
Almond (mentah)	24,0	Rolled oats	1,6
Kacang tanah	10,1	Tepung terigu	0,4
<b>Sayuran dan buah</b>		Beras merah	0,3
Ubi jalar	4,6	Roti gandum	0,2
Bayam	1,7	<b>Produk</b>	
Buah persik	1,3	Keju cheddar	0,9
Tomat	0,8	Keju cottage	0,1
Selada	0,8	<b>Kacang polong</b>	
Apel	0,4	Mung beans	0,9
Melon	0,1	Lentil	0,4
Brokoli	0,1	Kacang merah	0,2
Daging unggas	0,8		
Ikan	0,5		

Sumber : referensi no 12

### 2.3.7. Penilaian status vitamin E

Pengukuran vitamin E plasma merupakan metoda yang paling sering dan mudah dilakukan untuk memeriksa status vitamin E. Kadar normal vitamin E berkisar antara 12-30  $\mu\text{mol/L}$  (5-13 mg/L) dan lebih dari 90% terdiri dari  $\alpha$ -tokoferol.<sup>77</sup>

#### 2.4. PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN C DAN E TERHADAP KADAR MDA PLASMA PEROKOK

Penyakit kardiovaskuler (PKV) merupakan suatu penyakit yang prevalensinya makin meningkat dari tahun ke tahun. Salah satu faktor risiko utamanya adalah merokok. Dalam rokok terkandung banyak sekali radikal bebas dari fase gas dan tar, yang dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif yang berkepanjangan, meningkatkan peroksidasi lipid. Merokok memicu terjadinya peningkatan MDA. Hal ini dapat mengakibatkan kerusakan struktur dan fungsi LDL. LDL yang teroksidasi memegang peranan penting dalam terjadinya aterosklerosis dan berbagai penyakit lainnya.<sup>2,42</sup>

Pada studi observasional untuk melihat efek dari level merokok terhadap MDA, pada 130 pria dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok I (n=30) *mild smoker* (<10 *cigarettes/day*), kelompok II (n=35) *moderate smoker* (11-20 *cigarettes/day*), kelompok III (n=33) *heavy smoker* (>20 *cigarettes/day*), kelompok IV (n=32) kontrol (*healthy male*). Hasil yang didapatkan adalah makin tinggi level merokok berhubungan dengan peningkatan malondialdehid.

Tabel 2.10. Hubungan level merokok terhadap Malondialdehid (MDA)

Non smokers	MDA ( $\mu\text{mol/L}$ )		
	smokers		
	I	II	III
0,7	1,0*	1,2**	1,5***

\* $p < 0,05$  \*\* $p < 0,01$  \*\*\* $p < 0,01$

Sumber : referensi no 78

Penelitian Bloomer<sup>79</sup>, pada subyek usia 24-29 tahun, 13 bukan perokok dan 15 perokok, dengan rata-rata merokok 11-20 batang/ hari, didapatkan kadar MDA lebih rendah pada bukan perokok ( $0,647 \pm 0,16 \mu\text{mol/L}$  vs  $0,919 \pm 0,32 \mu\text{mol/L}$ ,  $p = 0,05$ ). Antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E baik dari sumber makanan maupun dari suplemen dapat menangkap radikal bebas yang ada dalam tubuh. Perokok kurang

mengonsumsi antioksidan, hal ini diketahui dari penelitian Gulati dkk<sup>80</sup>, pada 25 perokok laki-laki, usia 25-40 tahun diperiksa asupan makanan dan konsumsi vitamin C dan E sehari-hari. Asupan serat pada perokok sangat rendah, hal ini dikarenakan mereka kurang mengonsumsi buah-buahan dan sayuran ( $p < 0,05$ ). Konsumsi vitamin C dan E juga tergolong rendah ( $p < 0,05$ ). Setelah diberikan vitamin C 50 mg/hari selama 3 bulan didapatkan peningkatan serat dan konsumsi dari vitamin C dan E.

Beberapa penelitian epidemiologi melaporkan adanya hubungan antara asupan vitamin C dengan risiko PKV, artinya bila asupan vitamin C rendah maka risiko terkena PKV lebih tinggi dibandingkan dengan asupan yang lebih tinggi. Demikian pula dengan kadar vitamin C plasma, bila kadar vitamin C plasma rendah maka risiko terkena PKV lebih tinggi dibandingkan dengan kadar vitamin C plasma yang lebih tinggi. Asupan vitamin C 90-100 mg/hari dan kadar vitamin C plasma  $> 0,4$  mg/dl dapat mencegah beberapa penyakit termasuk PKV.<sup>17</sup>

Penelitian untuk mengetahui hubungan kadar vitamin C rendah  $< 0,4$  mg/dl, normal 0,5-1,0 mg/dl, dengan kematian akibat PKV. Didapatkan hasil kelompok dengan nilai serum askorbat yang tinggi, jumlah kematian akibat PKV menurun sampai 21-25%.<sup>81</sup>

Tabel 2.13. Hubungan kadar serum vitamin C dengan kematian akibat PKV

	Rendah (n=1,478)	Normal (n=2,775)	Tinggi (n=4,220)
Karakteristik Serum asam askorbat(mg/dL)	0,3	0,8	1,4
Rentang	(0,1-0,4)	(0,5-1,0)	(1,1-2,7)
Asupan asam askorbat (mg/d)	50	76	129
Kebiasaan merokok	61	38	26
Kematian karena PKV	8,2	6,0	6,0

Sumber : referensi no 81

Penelitian Munro dkk<sup>82</sup> memperlihatkan kadar vitamin E plasma pada perokok menurun signifikan di level 7,85 mg/dl, sedangkan bukan perokok

di level 9,2 mg/dl. Penelitian Traber dkk<sup>69</sup> pada perokok usia 24-30 tahun (n=6) dan bukan perokok (n=5) diberikan 75 mg *d3-RRR- $\alpha$ -tocopherol* dan *d6-all rac- $\alpha$ -tocopheryl asetat* selama 7 hari. Hasilnya, kadar plasma dalam darah perokok lebih rendah dibandingkan bukan perokok. Perokok memiliki  *$\alpha$ -tocopherol fractional disappearance rates*, dimana hal ini berkaitan dengan konsentrasi kadar asam askorbat ( $p < 0,05$ ). Perokok dengan kadar asam askorbat yang rendah lebih cepat kehilangan  $\alpha$ -tokoferol dibandingkan perokok yang memiliki konsentrasi kadar asam askorbat yang tinggi dalam plasma. Merokok meningkatkan hilangnya  $\alpha$  dan  $\gamma$  tokoferol, dikarenakan terjadinya stres oksidatif yang mengakibatkan tokoferol teroksidasi. Asam askorbat langsung mengurangi  $\alpha$  dan  *$\gamma$ -tocopheroxyl radicals* menjadi bentuk tidak teroksidasi, sehingga proses kehilangan vitamin E dapat berkurang. Untuk menurunkan peroksidasi lipid dibutuhkan vitamin E dalam dosis yang besar. Dosis minimum vitamin E yang efektif untuk menurunkan peroksidasi lipid telah diteliti oleh Jialal dkk<sup>83</sup> dalam suatu uji klinik terhadap 48 subyek laki-laki berusia rata-rata 30 tahun. Subyek dibagi menjadi enam kelompok yang diberikan suplementasi vitamin E dengan dosis yang berbeda-beda, yaitu 60 IU/hari, 200 IU/hari, 400 IU/hari, 800 IU/hari, 1200 IU/hari dan kelompok kontrol yang mendapat plasebo; masing-masing kelompok diberikan vitamin E atau plasebo satu kali per hari selama delapan minggu. Berdasarkan hasil penelitian tersebut untuk menurunkan peroksidasi lipid dibutuhkan vitamin E dengan dosis minimal 400 IU/hari. Dosis vitamin E tersebut jauh lebih besar dari anjuran AKG, sehingga untuk memenuhi kebutuhan vitamin E sebagai antioksidan tidak cukup hanya dari bahan makanan sumber, oleh karena itu diperlukan tambahan suplementasi vitamin E sintetik.<sup>83</sup>

Pada penelitian Hyun dkk<sup>13</sup>, meneliti pada subyek perokok dan bukan perokok yang terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok 1, 2, 3 yang masing-masing mendapat suplementasi vitamin C 500 mg, vitamin E 400 IU dan kombinasi. Suplementasi diberikan selama empat minggu. Hasil penelitian memperlihatkan penurunan MDA plasma lebih besar pada kelompok perokok yang mendapat kombinasi vitamin C dan E, (dari  $3,0 \pm 0,7 \mu\text{mol/L}$  menjadi  $2,3 \pm 0,6$

$\mu\text{mol/L}$ ) dibandingkan kelompok perokok yang mendapatkan suplementasi secara tunggal, yaitu kelompok 1 dengan suplementasi vit C 500 mg, (dari  $2,7\pm 0,9 \mu\text{mol/L}$  menjadi  $2,1\pm 0,5 \mu\text{mol/L}$ ) dan kelompok 2 dengan suplementasi vitamin E 400 IU, dari ( $2,7\pm 0,7 \mu\text{mol/L}$  menjadi  $2,3\pm 0,5 \mu\text{mol/L}$ ).

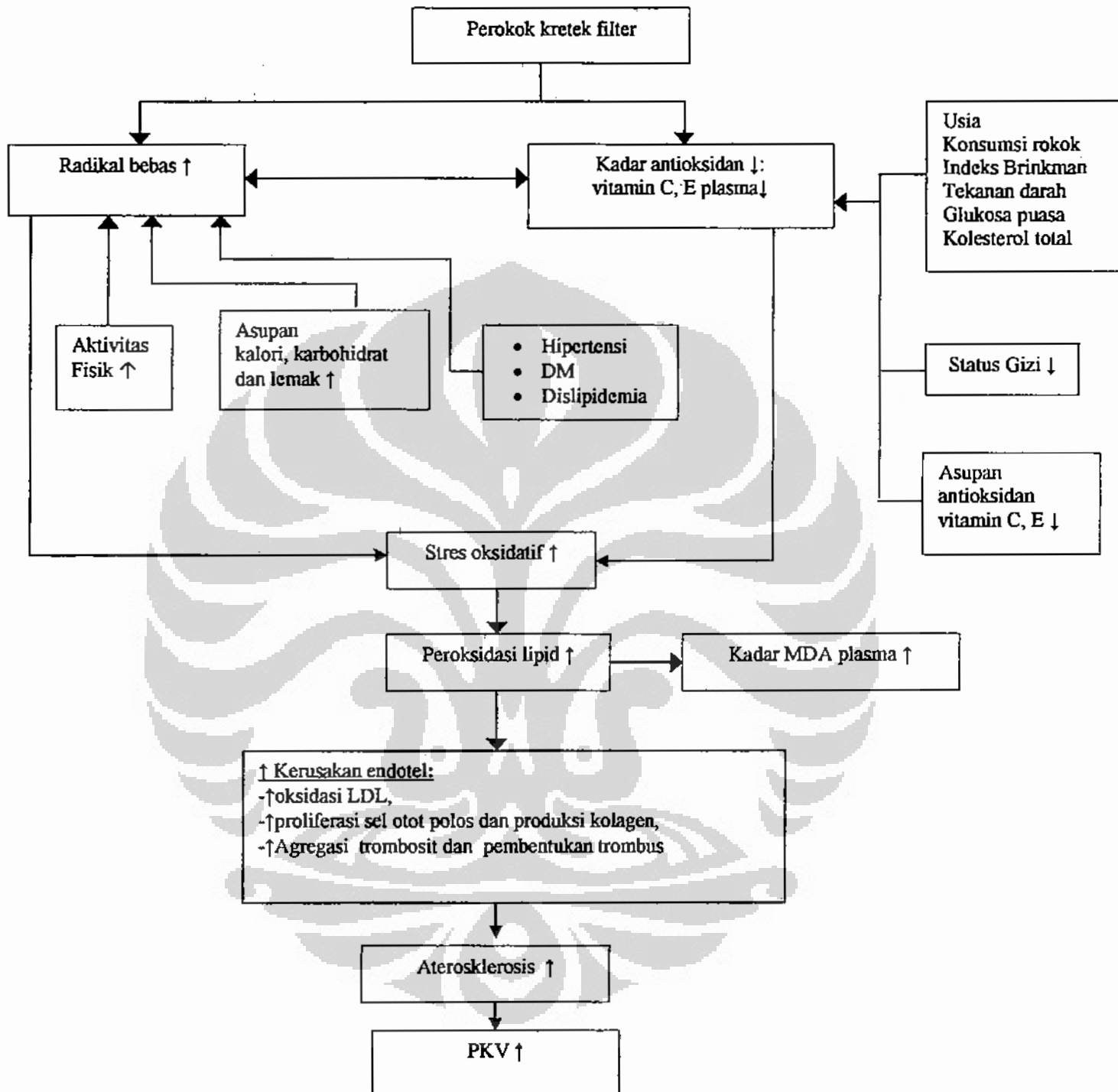
Penelitian Puchaiwatananon dkk pada perokok menunjukkan bahwa pada pemberian kombinasi vitamin C 500 mg dan vitamin E 500 mg selama empat minggu, peningkatan kadar vitamin C (dari  $0,57\pm 0,05 \text{ mg/dl}$  menjadi  $0,89\pm 0,03 \text{ mg/dl}$ ,  $p < 0,05$ ) dan vitamin E (dari  $926\pm 65 \mu\text{g/dl}$  menjadi  $1863\pm 154 \mu\text{g/dl}$ ,  $p < 0,05$ ), serta penurunan MDA secara signifikan (dari  $1,42 \pm 0,09 \mu\text{mol/L}$  menjadi  $0,91\pm 0,05 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0,05$ ).<sup>14</sup>

Tabel 2.15. Pemberian vitamin C dan E pada perokok

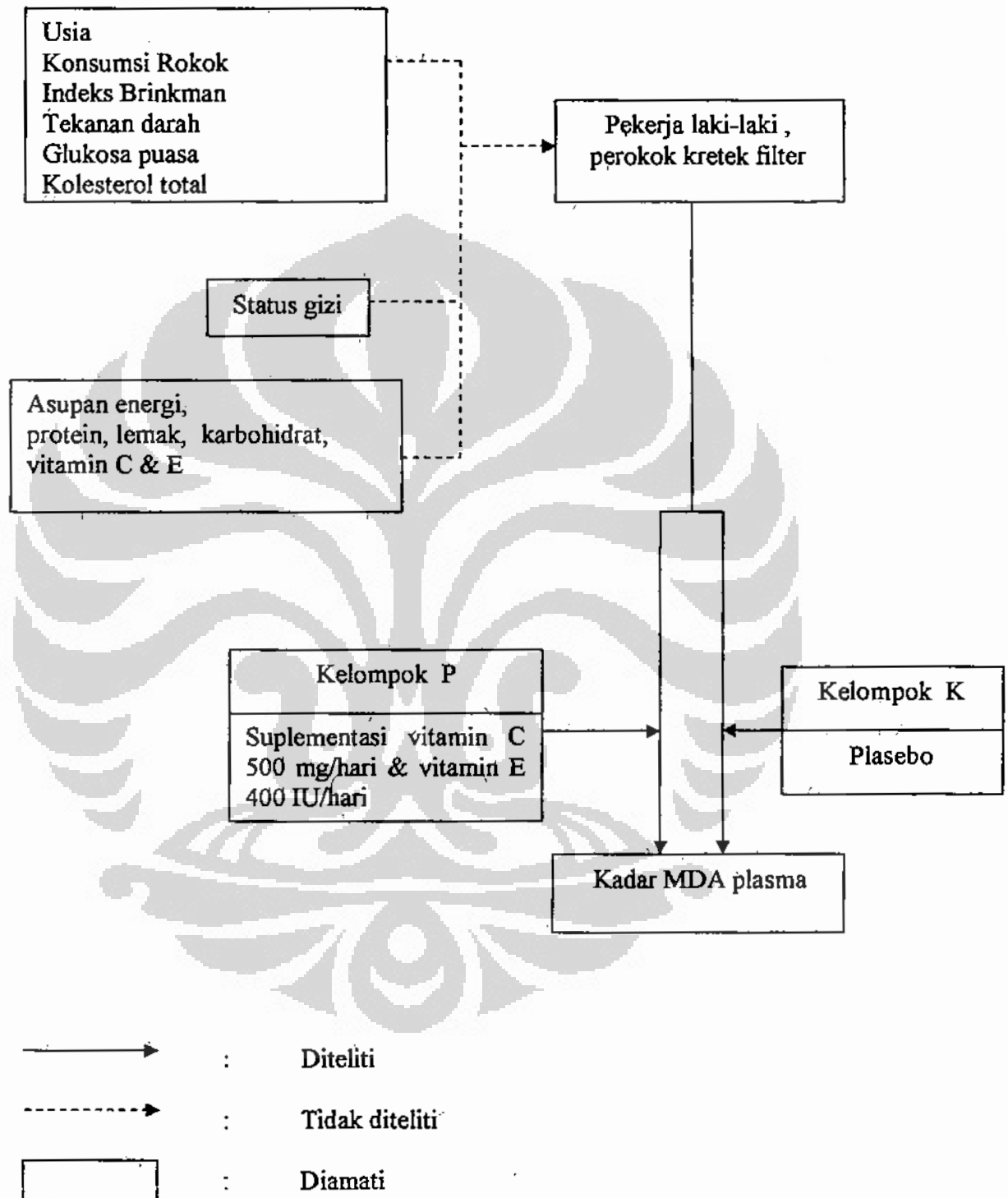
Parameter	Smokers (n=20)	
	Week 0	Week 4
Vitamin C, mg/dL	$0,57\pm 0,05^*$	$0,89\pm 0,03^{**}$
Vitamin E, $\mu\text{g/dL}$	$926\pm 65$	$1863\pm 154^{**}$
MDA, $\mu\text{mol/L}$	$1,42\pm 0,09^*$	$0,91\pm 0,05^{**}$

Sumber : referensi no 14

## 2.5. Kerangka Teori



## 2.6: Kerangka Konsep





## **BAB 3 METODE PENELITIAN**

### **3.1. Rancangan penelitian**

Penelitian ini merupakan uji klinis, paralel, tersamar tunggal, alokasi acak membandingkan kadar MDA plasma pada kelompok perlakuan yang mendapat suplementasi vitamin C 500 mg dikombinasikan dengan vitamin E dosis tunggal 400 IU satu kali sehari selama empat minggu berturut-turut (P) dengan kelompok kontrol yang mendapat plasebo (K)

### **3.2. Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di rumah makan, Jakarta Utara. Pengumpulan data dimulai dari bulan Juni sampai Juli 2010.

### **3.3. Bahan penelitian**

#### **3.3.1. Populasi dan sampel**

##### **Populasi target**

Populasi target adalah seluruh pekerja laki-laki perokok kretek filter usia 20-35 tahun di Jakarta.

##### **Populasi terjangkau**

Populasi terjangkau adalah seluruh pekerja laki-laki perokok kretek filter usia 20-35 tahun di rumah makan, Jakarta Utara, pada bulan Juni sampai Juli 2010.

##### **Subyek penelitian**

Subyek penelitian adalah bagian dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian, dipilih secara *convenient sampling* dan secara tertulis menyatakan bersedia ikut serta dalam penelitian. Alokasi subyek dilakukan dengan randomisasi blok.

#### **3.3.2. Kriteria penelitian**

##### **Kriteria Penerimaan**

- Berusia 20-35 tahun
- IMT 18,5-22,9 kg/m<sup>2</sup>
- Merokok <600 batang/tahun yang diketahui dengan anamnesis<sup>5</sup>

- Jenis rokok yang dikonsumsi adalah kretek filter
- Secara tertulis bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani formulir persetujuan

#### Kriteria Penolakan

- Subyek penelitian mengonsumsi suplemen antioksidan
- Menderita penyakit darah tinggi yang ditentukan dengan anamnesis dan pemeriksaan tekanan darah  $> 140/90$  mmHg<sup>84</sup>;
- Memiliki kadar glukosa darah puasa (GDP)  $\geq 126$  mg/dL<sup>85</sup> diketahui dari pemeriksaan laboratorium
- Memiliki kadar kolesterol total  $\geq 240$  mg/dL<sup>86</sup> diketahui dari pemeriksaan laboratorium

#### Kriteria Pengeluaran

- Tidak mengikuti prosedur penelitian secara lengkap
- Konsumsi suplemen kurang dari 80% dari yang diharuskan
- Selama penelitian menderita sakit yang menyebabkan subyek tidak dapat mengonsumsi suplemen, meninggal dunia atau menolak mengikuti penelitian.

#### 3.3.3. Besar sampel

Besar sampel yang diperlukan dihitung berdasarkan rumus dibawah ini :

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(Z_\alpha + Z_\beta) s}{d} \right]^2$$

$n_1 = n_2$  : besar sampel minimal untuk masing-masing kelompok.

$Z_\alpha$  : deviasi relatif yang menggambarkan derajat kepercayaan dalam pengambilan kesimpulan statistik sebesar 1,96 untuk  $\alpha = 0,05$

$Z_\beta$  : deviasi relatif yang menggambarkan tingkat kekuatan uji statistik dalam menetapkan batas kemaknaan, ditetapkan 0,842 untuk  $\beta = 0,20$

$s$  : simpang baku kadar MDA<sup>14</sup>

$d$  : perbedaan klinis yang diharapkan (ditetapkan oleh peneliti)

Maka besar sampel adalah :

$$n_1 = n_2 = 2 \left[ \frac{(1,96 + 0,84) \times 0,09}{0,085} \right] = 18 \text{ orang}$$

jumlah sampel yang diperlukan masing- masing 18 dan perkiraan drop out 10%, maka besar sampel minimal 20 orang/ kelompok.

### 3.4. Instrumen pengumpulan data

#### 3.4.1. Formulir

Lampiran 2

Formulir A : Formulir seleksi subyek penelitian

Formulir B1 : Lembar informasi untuk subyek penelitian

Formulir B2 : Lembar persetujuan untuk subyek penelitian

Formulir C : Formulir karakteristik subyek penelitian

Lampiran 3

Formulir D : Formulir penilaian asupan harian dengan *food record* 2x24 jam

Lampiran 4

Formulir E : Formulir data antropometri, yaitu BB, TB dan IMT

Lampiran 5

Formulir F : Formulir data laboratorium kadar MDA plasma

Lampiran 6 :

Formulir G : Formulir data kepatuhan

Lampiran 7 : Prosedur pemeriksaan laboratorium

Lampiran 8 : Prosedur randomisasi blok

Lampiran 9 : Tabel *dummy*

#### 3.4.2. Peralatan

- Jarum suntik, tabung vacutainer berlapis EDTA dan pipet serta kapas alkohol
- *Tuorniquet*
- Kotak pendingin untuk menyimpan spesimen
- Sentrifugator

- Tabung sentrifugator
- *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)
- Alat timbangan berat badan digital *Seca 804* dengan ketelitian 0,1 kg
- Alat ukur tinggi badan *Microtoise Stature Meter* 200 cm dengan ketelitian 0,1 cm
- *Food model*

### 3.4.3 Spesimen

Darah vena kubiti 5 mL untuk menilai kadar MDA plasma pada awal dan akhir masa perlakuan.

### 3.4.4. Bahan suplementasi

Vitamin C yang digunakan untuk suplementasi pada penelitian ini merupakan *calcium ascorbat* dengan dosis 500 mg. Kaplet vitamin C dimasukkan ke dalam kapsul dan ditempatkan pada plastik obat yang berbeda warna dengan vitamin E.

Vitamin E yang digunakan merupakan suplemen vitamin E yang memiliki stereoisomer *RRR- $\alpha$ -tokoferol* yang dikenal dengan *d- $\alpha$ -tokoferol* dengan dosis 400 IU yang setara dengan 268 mg. Vitamin E dimasukkan ke dalam kapsul dan ditempatkan pada plastik obat.

Plasebo pada penelitian ini menggunakan pemanis buatan aspartam. Plasebo dimasukkan ke dalam kapsul dan plastik obat yang berwarna sama dengan vitamin C dan E.

## 3.5. Cara Kerja

### 3.5.1. Cara memperoleh subyek penelitian

Sampel penelitian didapatkan dari rumah makan, Jakarta Utara. Pengambilan subyek dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik FKUI. Seleksi terhadap populasi dengan menggunakan formulir seleksi (formulir A). Selanjutnya subyek yang memenuhi kriteria penelitian diberikan lembar informasi (formulir B1) dan dijelaskan mengenai tujuan penelitian, manfaat penelitian serta pemeriksaan yang akan dilakukan. Subyek yang menyatakan bersedia ikut serta dalam penelitian diminta untuk mengisi dan menandatangani lembar persetujuan

(formulir B2) untuk dikembalikan kepada peneliti sebagai bukti bersedia turut serta dalam penelitian. Selanjutnya dilakukan seleksi subyek dengan melakukan anamnesis, pemeriksaan antropometri, pemeriksaan laboratorium. Subyek yang memenuhi kriteria penelitian selanjutnya dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (P) dan kelompok kontrol (K) dengan cara randomisasi blok.

### **3.5.2. Pelaksanaan penelitian**

Pelaksanaan penelitian dibagi dalam tiga periode yaitu periode sebelum perlakuan, periode selama perlakuan, dan periode setelah perlakuan.

#### **Periode pra perlakuan (H-8 sampai H0)**

Pada H-8 dilakukan pemberian informasi dan penjelasan kepada subyek tentang maksud dan manfaat penelitian serta tahapan-tahapan yang akan dilakukan, termasuk periode *run-in* selama tujuh hari yang harus dilakukan. Setelah itu, subyek penelitian diwawancara untuk memperoleh data karakteristik subyek. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan antropometri (tinggi badan/TB dan berat badan/BB). Subyek yang memenuhi kriteria penelitian berdasarkan wawancara dan pemeriksaan antropometri dilakukan pemeriksaan laboratorium (kolesterol total, dan glukosa darah puasa) untuk seleksi subyek. Subyek telah diingatkan untuk berpuasa 10-12 jam sebelumnya.

Subyek yang memenuhi kriteria penelitian tersebut dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan cara randomisasi blok. Kelompok perlakuan dan kelompok kontrol diberikan lembar *food record* untuk mencatat makanan yang dikonsumsi selama masa *run-in*.

H-7 sampai H-1 adalah masa periode *run in*. Pada H-7 subyek dari kedua kelompok memasuki masa *run-in*, subyek tidak diperbolehkan mengonsumsi suplemen antioksidan.

H0 pada subyek penelitian dilakukan pemeriksaan laboratorium kadar MDA plasma dan pengumpulan data *food record* selama masa *run in*.

### **Periode perlakuan (H1 sampai H28)**

#### **Kelompok P dan K**

Pada hari pertama perlakuan (H1), kelompok P diberikan kapsul vitamin C dan E, sedangkan kelompok K diberikan plasebo. Kemudian dijelaskan bahwa setiap hari subyek meminum dua butir kapsul setelah makan pagi. Setiap hari pada periode perlakuan, peneliti datang ke rumah makan, memberikan kapsul dan subyek langsung meminumnya di depan peneliti. Setiap subyek mendapat satu hari libur dalam seminggu. Satu hari sebelum hari libur kerja, subyek diberikan suplemen untuk dikonsumsi di rumah. Pada hari libur kerja, subyek diingatkan untuk mengonsumsi suplemen tersebut. Selain itu, dilakukan evaluasi terhadap kepatuhan dan keluhan subyek selama mengonsumsi suplemen tersebut.

Pada minggu ke 4, subyek penelitian diminta untuk mencatat jenis dan jumlah makanan serta minuman yang dikonsumsi selama dua hari (satu hari kerja dan satu hari libur). Catatan tersebut diberikan pada saat peneliti datang untuk memberikan suplementasi.

### **Periode setelah perlakuan (H29)**

Satu hari setelah perlakuan selesai (H29), dilakukan pemeriksaan antropometri yaitu IMT, dan kadar MDA plasma.

#### **3.5.3. Prosedur Pengumpulan Data**

Pada saat seleksi, wawancara dilakukan dengan menggunakan kuesioner untuk mendapatkan data karakteristik subyek.

#### **Pemeriksaan asupan makanan**

- Data asupan makanan

Data asupan makanan diperoleh melalui metode *food record*. Pada penelitian ini, metode *food record* bertujuan untuk menilai asupan harian energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan E. Dalam metode ini, subyek diminta mencatat jenis dan jumlah makanan yang dikonsumsi selama 2x24 jam. Jumlah makanan diukur menggunakan ukuran rumah tangga seperti sendok, gelas, dan lain-lain. Metode ini dilakukan di mulai dari awal dan

akhir perlakuan. Hasilnya dicatat dalam formulir catatan asupan makanan (formulir D).<sup>77</sup>

- Evaluasi konsumsi kapsul vitamin C dan E  
Setiap minggu dilakukan evaluasi untuk mengetahui berapa jumlah kapsul vitamin C dan E yang telah dikonsumsi dan berapa yang tersisa. Hasilnya dicatat pada formulir G.

### **Pengukuran antropometri**

Pengukuran antropometri subyek penelitian dilakukan pada sebelum masa perlakuan. Pengukuran antropometri meliputi BB dan TB. Setiap pengukuran dilakukan sebanyak dua kali dan diambil rerata dari hasil pengukuran tersebut. Hasil yang didapatkan digunakan untuk menentukan IMT.

- **Pengukuran BB**

Menggunakan timbangan *Seca 804* dengan ketelitian 0,1 kg yang diletakkan pada permukaan lantai yang rata dan keras. Alat timbangan terlebih dahulu dikalibrasi. Sebelum penimbangan dilakukan, subyek diminta melepas alas kaki, perhiasan, ataupun benda yang dapat menambah berat. Pada saat akan ditimbang, pastikan skala harus dalam keadaan seimbang dan menunjukkan nilai nol, dan subyek diminta berdiri tegak di tengah-tengah timbangan tanpa bantuan. Penimbangan dilakukan dua kali lalu hasil reratanya dicatat di formulir E.<sup>77</sup>

- **Prosedur pengukuran TB**

Menggunakan *microtoise stature* yang digantungkan pada dinding setinggi dua meter dari lantai. Pada waktu pengukuran, subyek berdiri tegak di tengah-tengah *microtoise* tanpa menggunakan alas kaki atau kaus kaki pada permukaan datar, kedua kaki lurus, lutut dan tumit rapat. Pandangan lurus ke depan dengan bagian belakang kepala, bokong dan tumit menempel pada dinding. Bahu relaks, kedua lengan tergantung bebas di sisi tubuh. Kemudian pita *microtoise* ditarik perlahan ke bawah sampai menyentuh puncak kepala dan rambut tertekan. Skala

dibaca saat subyek inspirasi maksimum. Pengukuran dilakukan dua kali lalu hasil reratanya dicatat di formulir E.<sup>77</sup>

### Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan kadar MDA plasma dilakukan pada subyek yang telah memenuhi kriteria penelitian. Sampel darah diambil pada pagi hari dari darah vena kubiti sebanyak 3 mL. Pemeriksaan kadar MDA plasma dilakukan dengan metode spektrofotometri (lampiran 7). Hasil pemeriksaan dicatat dalam formulir F. Kadar MDA plasma diperiksa awal dan akhir perlakuan.

### 3.6. Identifikasi variabel

#### Variabel bebas

- Suplementasi vitamin E
- Suplementasi vitamin C

#### Variabel tergantung

- Kadar MDA plasma

Tabel 3.1. Matriks identifikasi variabel

No	Variabel	Metoda	Skala	Kepustakaan
1.	Karakteristik demografi			
	a. umur	Wawancara	Rasio	BPS, 2009 <sup>87</sup>
	b. Konsumsi rokok	Wawancara	Rasio	PDPI, 2001 <sup>5</sup>
	c. Indeks Brinkman	Wawancara	Rasio	PDPI, 2001
	d. Tekanan darah	Pengukuran	Rasio	JNC 7 <sup>84</sup>
	- Sistolik			
	- Diastolik			
	e. Kadar glukosa darah puasa	Laboratorium	Rasio	PERKENI <sup>65</sup>
	f. Kadar kolesterol total	Laboratorium	Rasio	PERKENI <sup>86</sup>
2	Indeks Massa Tubuh (IMT)	Pengukuran antropometri	Rasio, ordinal	WHO-WPRO 2000 <sup>88</sup>
3	Asupan zat gizi			
	a. Energi	<i>Food record</i>	Rasio, ordinal	Gibson, 2005 <sup>77</sup>
	b. Protein	<i>Food record</i>	Rasio, ordinal	Gibson, 2005
	c. Lemak	<i>Food record</i>	Rasio, ordinal	Gibson, 2005
	d. Karbohidrat	<i>Food record</i>	Rasio, ordinal	Gibson, 2005
	e. Vitamin C	<i>Food record</i>	Rasio, ordinal	WNPG, 2004 <sup>52</sup>
	f. Vitamin E	<i>Food record</i>	Rasio, ordinal	WNPG, 2004 <sup>74</sup>
4.	Kadar MDA plasma	Spektrofotometri	Rasio/ordinal	Puchaiwatanon, 2004 <sup>14</sup>



### 3.7. Pengolahan, Analisis, Interpretasi, dan Penyajian Data

#### 3.7.1. Pengolahan data

Data yang diperoleh dari seluruh pemeriksaan (wawancara, antropometri, serta kadar MDA plasma) dikumpulkan, kemudian dilakukan pengolahan data meliputi *editing, coding, entry dan cleaning* data menggunakan mesin hitung dan komputer.

#### 3.7.2. Analisis dan interpretasi data

Data akan dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Package for Social Science* (SPSS versi 11.5). Analisis data asupan energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan E menggunakan program *nutrisurvey 2007*.

Uji statistik yang akan digunakan adalah

- Untuk mengetahui data mempunyai karakteristik normal atau tidak secara analitik digunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Bila didapat nilai  $p < 0,05$ , maka karakteristik distribusi tidak normal.
- Bila distribusi normal digunakan rerata dan simpang baku; atau bila distribusi tidak normal digunakan nilai median dan rentangan (minimum-maksimum).
- Untuk menganalisis data perbedaan hasil perlakuan kedua kelompok maka bila kedua data berdistribusi normal digunakan uji t tidak berpasangan; atau bila salah satu atau kedua data berdistribusi tidak normal digunakan uji Mann-Whitney.
- Batas kemaknaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 5% dengan ketentuan :

Bermakna : bila  $p < 0,05$

Tidak bermakna : bila  $p \geq 0,05$

#### 3.7.3. Penyajian data

Data disajikan dalam bentuk tekstular, tabular, dan grafik, serta disajikan dalam bentuk tesis dan diuji di hadapan para penguji.

### **3.8. Batasan operasional**

#### **1. Subyek penelitian**

Subyek penelitian adalah seluruh pekerja laki-laki yang merokok kretek filter yang berusia 20-35 tahun di rumah makan, Jakarta Utara dan memenuhi kriteria penelitian. Kelompok perlakuan adalah kelompok yang memperoleh suplemen vitamin C dan E, sedangkan kelompok kontrol adalah subyek yang memperoleh plasebo.

#### **2. Usia**

Usia yang digunakan berdasarkan tanggal lahir yang tertera di Kartu Tanda Penduduk (KTP) dan ditentukan berdasarkan hari ulang tahun terakhir usia subyek.

#### **3. Kebiasaan merokok**

Kebiasaan merokok ditentukan menurut modifikasi Indeks Brinkman, yaitu berat ringannya merokok dihitung dengan mengalikan lamanya merokok dalam tahun dengan jumlah konsumsi batang rokok per hari, sedangkan tidak merokok dihitung nol.<sup>5</sup>

Indeks Brinkman :

- 1 – 200 : ringan
- 201 – 600 : sedang
- > 600 : berat

#### **4. Tekanan darah**

Tekanan darah adalah nilai rerata hasil pengukuran tekanan darah sistolik dan diastolik subyek menggunakan stetoskop dan sfigmomanometer air raksa. Klasifikasi tekanan darah mengacu pada klasifikasi menurut JNC 7.<sup>84</sup>

### 5. Kadar glukosa darah puasa

Memiliki kadar glukosa darah puasa (GDP)  $\geq 126$  mg/dL diketahui dari pemeriksaan laboratorium. Klasifikasi kadar gula darah puasa mengacu pada klasifikasi menurut PERKENI.<sup>85</sup> Sebelum waktu pengambilan sampel darah, subyek penelitian diwajibkan melakukan puasa selama 12 jam.

### 6. Kadar kolesterol total

Memiliki kadar kolesterol total  $\geq 240$  mg/dL diketahui dari pemeriksaan laboratorium. Klasifikasi kadar kolesterol total mengacu pada klasifikasi menurut PERKENI.<sup>86</sup> Sebelum waktu pengambilan sampel darah, subyek penelitian diwajibkan melakukan puasa selama 12 jam.

### 7. Status gizi

Status gizi ditentukan dengan perhitungan IMT, yang didapat dengan cara membagi BB dalam kilogram dengan TB dalam meter kuadrat. Klasifikasi status gizi berdasarkan IMT:

Tabel 3.2. Klasifikasi status gizi

Klasifikasi	IMT ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )
Berat badan kurang	$< 18,5$
Berat badan normal	18,5-22,9
Berat badan lebih	$\geq 23$
Berisiko	23-24,9
Obes I	25-29,9
Obes II	$\geq 30$

Sumber : daftar referensi no 88

## 5. Asupan zat gizi

Asupan zat gizi yang dinilai pada penelitian ini adalah pola asupan dan asupan harian energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan vitamin E. Data asupan harian diperoleh dengan metoda *food record 2x24* jam pada awal dan akhir. Data asupan zat gizi dianalisis dengan menggunakan program *nutrisurvey 2007*.

### Asupan energi

Asupan energi adalah besarnya jumlah kalori yang dikonsumsi per orang per hari dibandingkan dengan kebutuhan energi total (KET) per individu. KET adalah jumlah kebutuhan energi basal (KEB), aktivitas fisik (AF) dan efek termik makanan (ETM).<sup>89</sup>

$$\text{KET} = \text{KEB} + \text{AF} + \text{ETM}$$

KEB dihitung dengan menggunakan rumus Harris-Benedict.

$$\text{KEB laki-laki (kkal/hari)} = 66 + (13,7 \times \text{BB}) + (5 \times \text{TB}) - (6,8 \times \text{U})$$

Keterangan :

BB = berat badan (kg), TB = tinggi badan (cm), U = usia (tahun)

Aktivitas fisik sehari-hari pekerja homogen (berdasarkan indeks aktivitas fisik (IAF), yaitu termasuk tingkat sedang), kemudian ditentukan penambahan kalori dengan menambahkan 20% dari KEB. Penilaian asupan energi dapat dilihat pada tabel 3.3.

Tabel 3.3. Interpretasi Asupan Energi

Asupan	Hasil Penilaian	Interpretasi
Energi	<80% dari KET	Kurang
(kkal/hari)	80-120% dari KET	Cukup
	>120% dari KET	Lebih

Sumber : daftar referensi no 90

## 6. Asupan protein

Asupan protein adalah jumlah rata-rata protein yang dikonsumsi per orang per

hari. Data asupan diperoleh dalam satuan gram dan persentase asupan protein terhadap asupan energi total. Asupan protein yang memenuhi kecukupan mencapai rentang 15- 20% dari total asupan energi.<sup>90</sup>

#### **7. Asupan lemak**

Asupan lemak adalah jumlah rata-rata lemak yang dikonsumsi per orang per hari. Data asupan diperoleh dalam satuan gram dan persentase asupan lemak terhadap asupan energi total. Asupan lemak yang memenuhi kecukupan mencapai rentang 20- 25% dari total asupan energi.<sup>90</sup>

#### **8. Asupan karbohidrat**

Asupan karbohidrat adalah jumlah rata-rata karbohidrat yang dikonsumsi per orang per hari. Data asupan diperoleh dalam satuan gram dan persentase asupan karbohidrat terhadap asupan energi total. Asupan karbohidrat yang memenuhi kecukupan mencapai rentang 45- 65% dari total asupan energi.<sup>90</sup>

#### **9. Asupan vitamin C**

Asupan vitamin C adalah banyaknya vitamin C yang dikonsumsi dalam makanan per hari. Kebutuhan asupan vitamin C adalah  $\geq 90$  mg/hari.<sup>52</sup>

#### **10. Asupan vitamin E**

Asupan vitamin E adalah banyaknya vitamin E yang dikonsumsi dalam makanan per hari. Kebutuhan asupan vitamin E adalah  $\geq 15$  mg/hari.<sup>74</sup>

#### **11. Kadar MDA plasma**

Kadar MDA plasma subyek penelitian diperoleh dari pemeriksaan plasma subyek penelitian yang diambil pada saat awal dan akhir minggu empat masa perlakuan.

#### **12. Bahan suplementasi**

Bahan suplementasi yang diberikan pada subyek penelitian untuk kelompok P adalah vitamin C 500 mg dan vitamin E 400 IU dan untuk kelompok K adalah

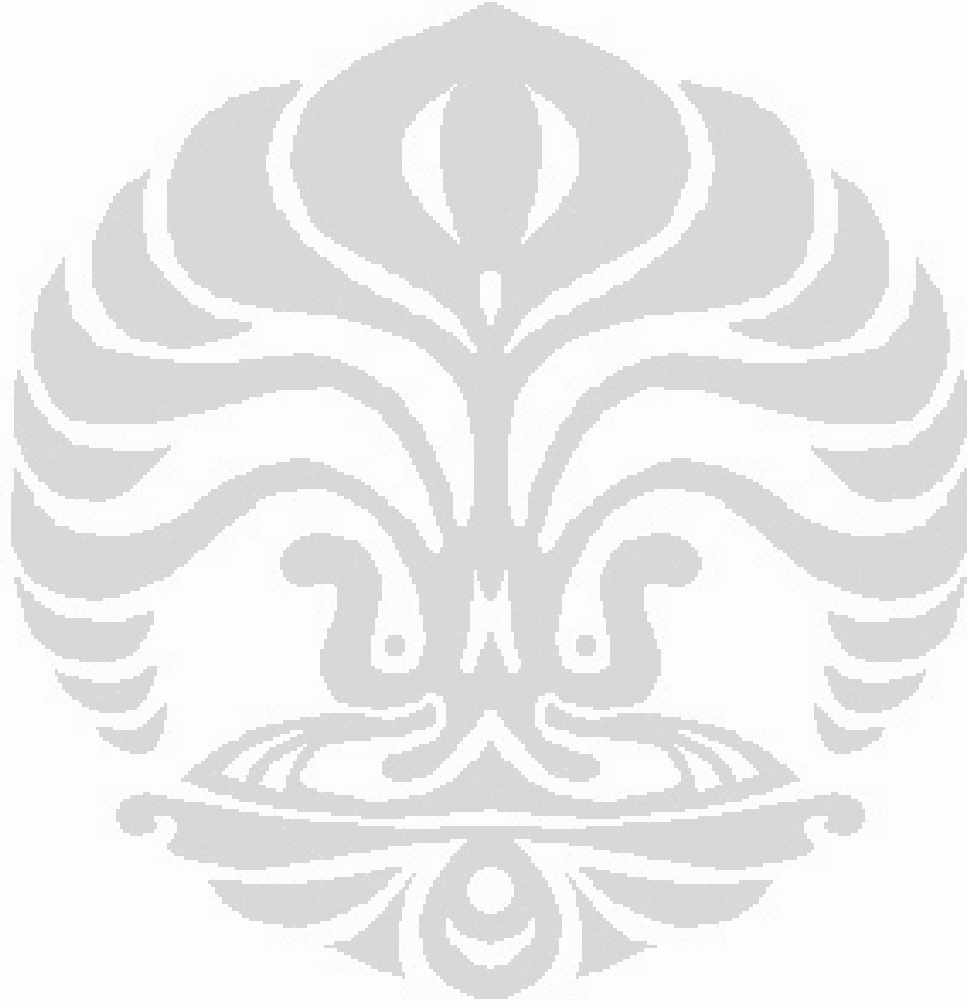
plasebo yang bentuknya mirip dengan vitamin C dan vitamin E. Bahan suplementasi diminum sekali sehari selama empat minggu.

### **3.9. Organisasi Penelitian**

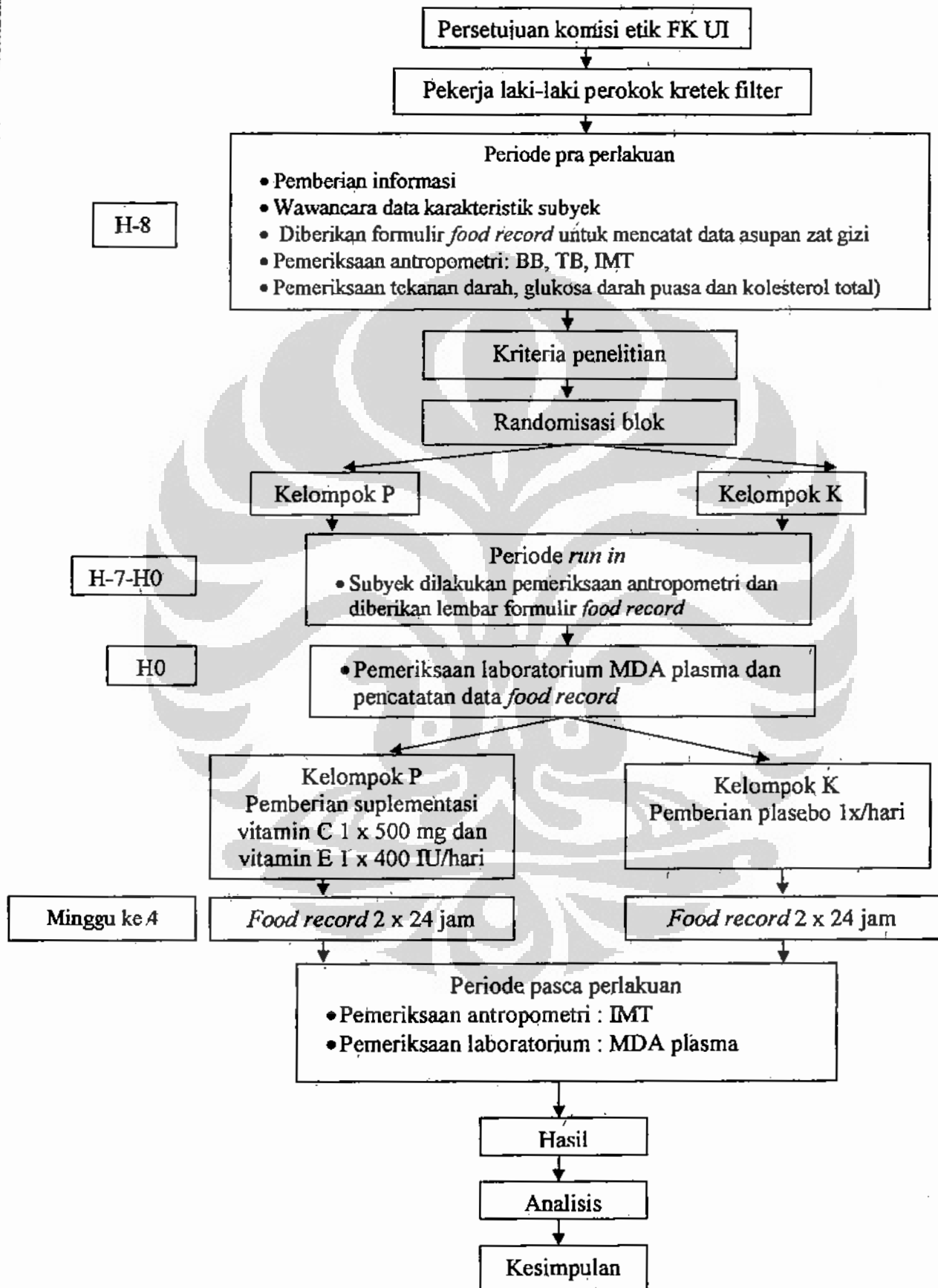
Peneliti utama : dr. Emilia Slamet

Pembimbing I : Prof. Dr. Walujo S.S, MSc, SpGK, PhD

Pembimbing II : Prof. Dr. Lukman Hakim Makmun, SpPD, KKV, KGER,  
FINASIM



### 3.10. Alur penelitian



## BAB 4

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1. Seleksi subyek penelitian

Subyek penelitian adalah pekerja laki-laki perokok kretek filter yang bekerja di rumah makan, Jakarta Utara. Jumlah pekerja tersebut adalah 60 orang. Setelah diberikan informasi mengenai penelitian dan dilakukan wawancara, seluruh pekerja yang bersedia mengikuti dan memenuhi kriteria penelitian serta bersedia diambil darahnya sebanyak 60 orang. Setelah itu, dilakukan pengukuran tekanan darah ( $<140/90$  mmHg), pemeriksaan darah untuk mengetahui kadar GDP ( $\leq 126$  mg/dL) dan kolesterol total ( $\leq 240$  mg/dL) dan subyek penelitian yang didapat sesuai dengan kriteria, berjumlah 40 orang. Setelah didapatkan subyek penelitian kemudian dibagi menjadi dua kelompok dengan menggunakan randomisasi blok. Masing-masing kelompok terdiri dari 20 orang, yaitu untuk kelompok yang mendapatkan kombinasi vitamin C dan E, serta kelompok yang mendapatkan plasebo. Pada masa perlakuan terdapat satu orang *drop-out* dari kelompok vitamin C dan E, sedangkan dari kelompok plasebo, dua orang *drop-out*. Hal ini terjadi karena subyek berhenti bekerja dengan alasan pribadi. Jumlah subyek yang memenuhi kriteria penelitian baik dari kelompok vitamin C dan E 19 orang, dari kelompok plasebo berjumlah 18 orang.

#### 4.2. Karakteristik demografi subyek penelitian

Tabel 4.1 memperlihatkan tidak ada perbedaan bermakna pada karakteristik subyek penelitian antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol berdasarkan usia, konsumsi rokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa puasa, kadar kolesterol total, indeks massa tubuh (IMT), asupan nutrisi selama perlakuan, dan kadar MDA sebelum perlakuan. Hal ini menggambarkan kedua kelompok pada awal penelitian dalam keadaan homogen.



Tabel 4.1. Karakteristik subyek penelitian berdasarkan usia, konsumsi rokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa puasa, kadar kolesterol total, IMT, asupan nutrisi selama perlakuan dan kadar MDA sebelum perlakuan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Variabel	Kelompok perlakuan (n=19)	Kelompok kontrol (n=18)	P
Rerata usia (tahun)	26 (23-35) <sup>b</sup>	31,5 (20-35) <sup>b</sup>	0,784 <sup>*mw</sup>
Konsumsi rokok (batang/hari)	12 (10-18) <sup>b</sup>	12 (9-18) <sup>b</sup>	0,962 <sup>*mw</sup>
Indeks Brinkman	184,05 ± 51,06 <sup>a</sup>	205,33±45,95 <sup>a</sup>	0,271 <sup>*tt</sup>
Tekanan darah sistolik(mmHg)	120(110-120) <sup>b</sup>	120(110-120) <sup>b</sup>	0,899 <sup>*mw</sup>
Tekanan darah diastolik(mmHg)	80(70-80) <sup>b</sup>	80(70-80) <sup>b</sup>	0,26 <sup>*mw</sup>
Glukosa darah puasa (mg/ dL)	100,5(94-106) <sup>b</sup>	100,5(94-110) <sup>b</sup>	0,848 <sup>*mw</sup>
Kolesterol total (mg/ dL)	147,25± 5,03 <sup>a</sup>	149,5± 4,06 <sup>a</sup>	0,187 <sup>*tt</sup>
IMT (kg/m <sup>2</sup> )	20,43± 0,83 <sup>a</sup>	20,13± 1,09 <sup>a</sup>	0,346 <sup>*tt</sup>
KET (kkal)	1924,11± 120,90 <sup>a</sup>	1885,94± 85,24 <sup>a</sup>	0,273 <sup>*tt</sup>
Asupan energi (kkal)	2064,87± 172,31 <sup>a</sup>	2089,71± 146,31 <sup>a</sup>	0,639 <sup>*tt</sup>
% asupan energi terhadap KET	107,40 ± 7,29 <sup>a</sup>	110,78± 5,40 <sup>a</sup>	0,118 <sup>*tt</sup>
Asupan protein (g)	76,82± 9,20 <sup>a</sup>	77,79± 7,86 <sup>a</sup>	0,073 <sup>*tt</sup>
% asupan protein terhadap energi	15 (13-17) <sup>b</sup>	15 (12 - 17) <sup>b</sup>	0,866 <sup>*mw</sup>
Asupan lemak (g)	88,39± 11,80 <sup>a</sup>	95,34± 15,04 <sup>a</sup>	0,129 <sup>*tt</sup>
% asupan lemak terhadap energi	37,37± 5,02 <sup>a</sup>	39,50± 5,45 <sup>a</sup>	0,225 <sup>*tt</sup>
Asupan karbohidrat (g)	247,23± 37,63 <sup>a</sup>	239,06± 33,98 <sup>a</sup>	0,492 <sup>*tt</sup>
% asupan karbohidrat terhadap energi	47 (39-57) <sup>b</sup>	44 (36-55) <sup>b</sup>	0,475 <sup>*tt</sup>
Asupan vitamin C (mg)	12,67± 1,27 <sup>a</sup>	13,02± 1,17 <sup>a</sup>	0,39 <sup>*tt</sup>
Asupan vitamin E (mg)	5,7 (4,1-7) <sup>b</sup>	5,3 (4,1-6,8) <sup>b</sup>	0,644 <sup>*mw</sup>
MDA plasma sebelum perlakuan (nmol/mL)	1,39± 0,19 <sup>a</sup>	1,34± 0,09 <sup>a</sup>	0,342 <sup>*tt</sup>

Keterangan:

p = batas kemaknaan (p <0,05), \* = tidak bermakna, \*\* = bermakna

<sup>a</sup> = uji t tidak berpasangan, <sup>mw</sup> = uji mann whitney;

<sup>a</sup> = data terdistribusi normal disajikan dalam bentuk mean ± SD, <sup>b</sup> = data terdistribusi tidak normal disajikan dalam bentuk median (minimum-maksimum)

#### 4.3. Status Gizi

Pada penelitian ini status gizi ditentukan dengan menghitung IMT subyek pada H-8 dan H 29. Pada tabel 4.2 terlihat IMT sebelum perlakuan pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna (p >0,05). Pasca perlakuan bari ke 29, IMT subyek penelitian pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna (p >0,05). Pada uji statistik IMT H-8 dan H 29 kelompok perlakuan dan kontrol, tidak terdapat peningkatan yang bermakna (p >0,05).

**Tabel 4.2. Status gizi berdasarkan indeks massa tubuh (IMT) pada H-8 dan H 29 masa perlakuan pada kelompok perlakuan & kontrol.**

Variabel	Kelompok perlakuan (n=19)	Kelompok kontrol (n=18)	p <sup>^</sup>
IMT (kg/m <sup>2</sup> )			
H-8	20,43± 0,83	20,13± 1,09	0,346*
H 29	20,43±0,84	20,13± 1,03	0,344*
p#	0,497*	0,963*	

**Keterangan:**

p<sup>^</sup> : uji t tidak berpasangan H 29 antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol

p# : uji t berpasangan antara H-8 dengan H29 pada kelompok perlakuan atau kelompok kontrol

p = batas kemaknaan (p <0,05), \* = tidak bermakna, \*\* = bermakna

#### 4.4. Asupan zat gizi

Asupan zat gizi pada penelitian ini meliputi asupan energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan E, subyek penelitian yang diperoleh dengan menggunakan metode *food record* 2x24 jam. Pada tabel 4.3 memperlihatkan rerata seluruh asupan zat gizi subyek penelitian pada akhir perlakuan tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok (p >0,05). Rerata persentase asupan energi, protein dan karbohidrat terhadap KET kedua kelompok pada awal dan akhir perlakuan masing-masing tergolong cukup. Rerata persentase asupan lemak terhadap KET masing-masing tergolong lebih. Sedangkan rerata persentase asupan vitamin C dan E kurang dibandingkan kebutuhan.

**Tabel 4.3. Kebutuhan, asupan energi dibandingkan kebutuhan; persentase asupan protein, lemak, karbohidrat terhadap total energi, vitamin C, dan E pada awal dan akhir, *food record* (dua kali perminggu).**

Variabel	Kelompok Perlakuan		Kelompok Kontrol		P
	Awal	Akhir	Awal	Akhir	
KET (kkal/hari)	1937,10 (1693,90-2128,49) <sup>b</sup>	1926,42 (1693,9-2128,49) <sup>b</sup>	1867,79 (1715,74-2005,90) <sup>b</sup>	1869,57 (1715,74-1988,09) <sup>b</sup>	0,33 <sup>*mww</sup>
Asupan energi (kkal/hari)	2064,87± 172,31 <sup>a</sup>	2048,25±112,97 <sup>a</sup>	2089,71±146,31 <sup>a</sup>	2073± 118,13 <sup>a</sup>	0,52 <sup>**</sup>
% asupan energi thd kebutuhan energi total	107,40 ± 7,29 <sup>a</sup>	106,86±7,12 <sup>a</sup>	110,78± 5,40 <sup>a</sup>	110±5,99 <sup>a</sup>	0,15 <sup>**</sup>
Asupan protein yang terpenuhi (g/hari)	76,82± 9,20 <sup>a</sup>	70,48± 6,38 <sup>a</sup>	77,79± 7,86 <sup>a</sup>	68,91± 4,95 <sup>a</sup>	0,41 <sup>**</sup>
% asupan protein thd asupan energi (%)	15 (13-17) <sup>b</sup>	14 (12-16) <sup>b</sup>	15 (12 - 17) <sup>b</sup>	13 (12- 15) <sup>b</sup>	0,18 <sup>*mww</sup>
Asupan lemak (g/hari)	88,39± 11,80 <sup>a</sup>	76,08± 10,81 <sup>a</sup>	95,34± 15,04 <sup>a</sup>	81,69± 14,88 <sup>a</sup>	0,20 <sup>**</sup>
% asupan lemak thd asupan energi (%)	37,37± 5,02 <sup>a</sup>	32,16± 4,51 <sup>a</sup>	39,50± 5,45 <sup>a</sup>	34,22± 5,68 <sup>a</sup>	0,23 <sup>**</sup>
Asupan karbohidrat (g/hari)	241,3 (173,60-313,20) <sup>b</sup>	281,1 (202,6-325,9) <sup>b</sup>	237,2 (173,60- 309,2) <sup>b</sup>	279,15 (202,6- 311,7) <sup>b</sup>	0,54 <sup>*mww</sup>
% asupan karbohidrat thd asupan energi (%)	47 (39-57) <sup>b</sup>	53 (45-53) <sup>b</sup>	44 (36-55) <sup>b</sup>	52,5(42-61) <sup>b</sup>	0,48 <sup>*mww</sup>
Asupan vitamin C (g/hari)	12,67± 1,27 <sup>a</sup>	12,07± 1,28 <sup>a</sup>	13,02± 1,17 <sup>a</sup>	12,38± 1,35 <sup>a</sup>	0,48 <sup>**</sup>
% asupan vitamin C thd kebutuhan (%)	14,08±1,41 <sup>a</sup>	13,41± 1,42 <sup>a</sup>	14,47± 1,29 <sup>a</sup>	13,75±1,49 <sup>a</sup>	0,48 <sup>**</sup>
Asupan vitamin E (mg/hari)	5,7 (4,1-7) <sup>b</sup>	5,5 (4,6-6,4) <sup>b</sup>	5,3 (4,1-6,8) <sup>b</sup>	5,6 (4,6-7,6) <sup>b</sup>	0,94 <sup>*mww</sup>
% asupan vitamin E thd kebutuhan (%)	38,1±6,34 <sup>a</sup>	37,61±3,74 <sup>a</sup>	36,37±5,49 <sup>a</sup>	38 ±6,1 <sup>a</sup>	0,79 <sup>**</sup>

Keterangan:

Uji statistik dilakukan pada data asupan akhir perlakuan

p = batas kemaknaan (p < 0,05), \* = tidak bermakna, \*\* = bermakna

<sup>a</sup> = uji t tidak berpasangan, <sup>mww</sup> = uji mann whitney;

<sup>a</sup> = data terdistribusi normal disajikan dalam bentuk mean ± SD, <sup>b</sup> = data terdistribusi tidak normal disajikan dalam bentuk median (minimum-maksimum)

#### 4.5. Kadar MDA plasma

Tabel 4.4 memperlihatkan hasil pemeriksaan MDA plasma pada saat awal, akhir perlakuan dan perbedaan MDA pada kedua kelompok. Tidak terdapat perbedaan bermakna rerata kadar MDA plasma pada awal perlakuan antara kelompok perlakuan dan kontrol ( $p = 0,342$ ). Didapatkan perbedaan yang bermakna antara kadar MDA plasma semua subyek pada akhir perlakuan pada kelompok perlakuan dan kontrol ( $p < 0,037$ ).

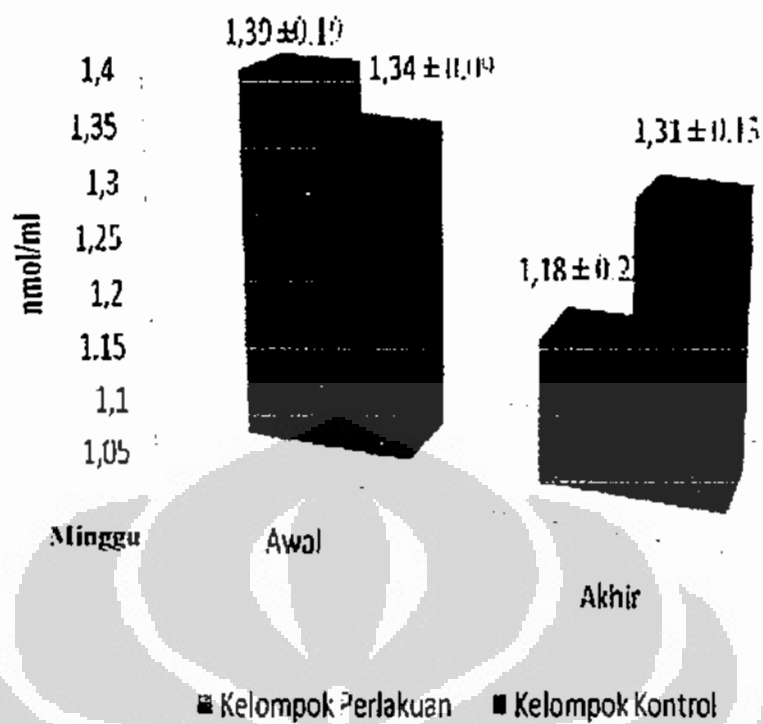
Tabel 4.4. Rerata dan uji statistik kadar MDA plasma subyek pada kelompok perlakuan dan kontrol.

Variabel	Kelompok perlakuan (n=19)	Kelompok kontrol (n=18)	P
MDA plasma (nmol/mL)			
Awal	1,39± 0,19	1,34± 0,09	0,342** <sup>tt</sup>
Akhir	1,18± 0,22	1,31±0,13	<0,037** <sup>tt</sup>

Keterangan:

p = batas kemaknaan ( $p < 0,05$ ), \* = tidak bermakna, \*\* = bermakna,

<sup>tt</sup> = uji t tidak berpasangan; <sup>mw</sup> = uji mann whitney



Gambar 4.1 Diagram rerata kadar MDA plasma subyek pada awal dan akhir perlakuan.

## BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, tersamar tunggal, alokasi acak, pada pekerja laki-laki perokok kretek filter di rumah makan, Jakarta Utara. Penelitian ini membandingkan antara kelompok perlakuan yang mendapat suplementasi vitamin C 500 mg dikombinasi dengan vitamin E 400 IU dengan kelompok plasebo, masing-masing dikonsumsi sekali sehari selama empat minggu untuk mengetahui pengaruh suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar MDA plasma. Penelitian mengenai pengaruh suplementasi vitamin C yang dikombinasikan dengan vitamin E untuk mengurangi peroksidasi lipid pada pekerja laki-laki perokok kretek filter belum pernah dilakukan di Indonesia. Dosis vitamin C 500 mg serta jangka waktu penelitian selama empat minggu sesuai dengan penelitian Puchaiwatananon dkk<sup>14</sup>, dosis suplementasi vitamin E sebesar 400 IU sesuai dengan kesimpulan dari penelitian Jialal dkk<sup>83</sup> tentang dosis optimal vitamin E untuk menurunkan peroksidasi lipid.

### 5.1. Keterbatasan penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Salah satu keterbatasan adalah rancangan penelitian uji klinis tertutup tunggal. Pada rancangan ini memungkinkan peneliti dapat mempengaruhi perlakuan terhadap subyek penelitian sehingga mempengaruhi hasil penelitian. Kemungkinan ini telah diusahakan diperkecil dengan memberikan perlakuan sama kepada kedua kelompok dan pemeriksaan darah dilakukan oleh petugas laboratorium yang tidak mengenal subyek penelitian.

Pengumpulan data asupan zat gizi dilakukan dengan metode *food record* 2x24 jam yang dilakukan selama dua kali yaitu pada awal dan akhir perlakuan. Metode *food record* ini merupakan metode yang relatif lebih baik digunakan untuk pengumpulan data asupan. Walaupun demikian, metode ini memiliki keterbatasan di mana mungkin dapat terjadi kesalahan pencatatan asupan, karena subyek sulit memperkirakan jumlah makanan dan minumannya dengan tepat. Oleh karena itu kepada setiap subyek penelitian dibawakan catatan keterangan

berbagai ukuran rumah tangga (URT) agar subyek dapat mencatat dengan tepat asupan yang dikonsumsi. Keterbatasan lain dalam metode ini adalah dapat terjadi *flat slope syndrome*, yaitu orang dengan asupan nutrisi yang berlebihan cenderung melaporkan asupan yang kurang, sedangkan orang dengan asupan nutrisi yang kurang cenderung melaporkan asupan yang lebih tinggi dari sebenarnya.<sup>91</sup> Untuk mengantisipasi hal tersebut sebelum pengambilan data asupan, telah diberikan penjelasan tentang pentingnya kebenaran laporan asupan untuk menilai kondisi kesehatan subyek.

Keterbatasan lainnya adalah dalam hal pemeriksaan laboratorium, yaitu tidak dipiksanya kadar vitamin C dan vitamin E darah subyek penelitian pada saat awal dan akhir masa perlakuan, sehingga tidak dapat dibuktikan apakah ada peningkatan kadar vitamin C dan E di dalam darah setelah suplementasi. Namun demikian, pada penelitian ini dilakukan penilaian asupan vitamin C dan vitamin E sehingga mungkin dapat memperkirakan jumlah vitamin C dan E yang di konsumsi.

## 5.2. Seleksi subyek penelitian

Subyek penelitian adalah pekerja laki-laki perokok kretek filter yang bekerja di rumah makan, Jakarta Utara. Jumlah pekerja tersebut adalah 60 orang. Setelah diberikan informasi mengenai penelitian dan dilakukan wawancara, pekerja yang bersedia mengikuti dan memenuhi kriteria penelitian serta bersedia diambil darahnya sebanyak 60 orang. Setelah dilakukan pengukuran tekanan darah, pemeriksaan darah untuk mengetahui kadar GDP dan kadar kolesterol total, subyek penelitian yang memenuhi kriteria berjumlah 40 orang. Setelah didapatkan subyek penelitian kemudian dibagi menjadi dua kelompok dengan menggunakan randomisasi blok untuk mendapatkan sebaran yang merata. Masing-masing kelompok terdiri dari 20 orang, yaitu untuk kelompok yang mendapatkan kombinasi vitamin C dan E, serta kelompok yang mendapatkan plasebo. Pada masa perlakuan terdapat satu orang *drop-out* dari kelompok vitamin C dan E, sedangkan dari kelompok plasebo, dua orang *drop-out*. Hal ini terjadi karena subyek berhenti bekerja dengan alasan pribadi. Jumlah subyek yang memenuhi kriteria penelitian baik dari kelompok vitamin C dan E 19 orang, dari kelompok

plasebo berjumlah 18 orang. Jumlah total subyek yang mengikuti penelitian ini lengkap sampai akhir adalah sebanyak 37 orang. Tidak didapatkan gejala dan tanda efek samping pemberian suplemen pada seluruh subyek.

### **5.3. Karakteristik demografi subyek penelitian**

#### **5.3.1. Usia**

Rerata usia subyek penelitian pada kelompok vitamin C+E serta plasebo masing-masing adalah 26 (23-35) dan 31,5 (20-35) tahun. Data ini sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menyebutkan perokok banyak didapat pada rerata usia 22-35 tahun.<sup>92,93</sup> Rerata usia perokok pada penelitian ini lebih muda apabila dibandingkan laporan penelitian oleh Toohey yang mendapatkan rerata usia perokok sekitar 48 tahun.<sup>94</sup> Menurut RISKESDAS 2007, prevalensi perokok terdapat pada usia 15-54 tahun.<sup>6</sup> Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, kalangan perokok terdiri dari berbagai usia, terutama usia produktif.

#### **5.3.2. Konsumsi rokok dan indeks Brinkman**

Konsumsi rokok pada kelompok perlakuan dan kontrol yaitu 12 (10-18) dan 12 (9-18), hal ini sesuai dengan data RISKESDAS 2007 dimana rata-rata konsumsi rokok 12-14 batang/hari. Data dari Lykkesfeldt<sup>93</sup> didapatkan rata-rata konsumsi rokok lebih banyak dibandingkan subyek penelitian yaitu 23±15 batang/hari. Solak dkk<sup>78</sup> melihat adanya hubungan antara level merokok dengan kadar MDA, dimana makin tinggi level merokok maka akan meningkatkan kadar MDA. Level merokok pada subyek penelitian ini dinilai dengan indeks Brinkman. Pada subyek penelitian ini indeks Brinkman termasuk kategori ringan sampai sedang. Indeks Brinkman pada kelompok perlakuan dan kontrol yaitu 184,05±51,06 dan 205,33±45,95, dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya ( $p=0,271$ ).



### 5.3.3. Tekanan darah, kadar glukosa darah puasa, kadar kolesterol total

Pada penelitian ini tekanan darah pada kelompok perlakuan dan kontrol mempunyai median yang sama yaitu tekanan darah sistolik 120 (110-120)mmHg dengan  $p = 0,899$  dan tekanan darah diastolik 80 (70-80) mmHg dengan  $p = 0,26$ , dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya.

Kadar glukosa darah puasa pada kelompok perlakuan 100,5 (96-106) mg/dl dan kontrol adalah 100,5 (94-110) mg/dl dengan  $p = 0,848$ , dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya. Hal ini berbeda dengan penelitian Gulati<sup>80</sup>, dimana kadar glukosa darah puasa pada perokok yaitu  $91,13 \pm 2,01$  mg/dl.

Kadar kolesterol total pada kelompok perlakuan  $147,25 \pm 5,03$  mg/dl dan kontrol  $149,5 \pm 4,06$  mg/dl dengan  $p = 0,187$ , dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya. Pada penelitian Gulati<sup>80</sup>, kadar kolesterol total pada perokok lebih tinggi dibandingkan pada subyek ini yaitu  $233,15 \pm 12,01$  mg/dl.

### 5.3.4. Status gizi (IMT)

Rerata IMT H-8 subyek penelitian pada kelompok perlakuan dan kontrol adalah  $20,43 \pm 0,83$  dan  $20,13 \pm 1,09$  kg/m<sup>2</sup>, tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p = 0,346$ ). Demikian pula rerata IMT H29 subyek penelitian pada kelompok perlakuan dan kontrol adalah  $20,43 \pm 0,84$  dan  $20,13 \pm 1,03$  kg/m<sup>2</sup>, tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p = 0,344$ ). Disamping itu tidak terdapat peningkatan IMT antara H-8 dan H29 baik pada kelompok perlakuan ( $p = 0,497$ ) maupun kelompok kontrol ( $p = 0,963$ ). Pada penelitian ini IMT subyek penelitian termasuk kategori berat badan normal. Pada penelitian Marangon<sup>92</sup> didapatkan IMT  $24,3 \pm 3,6$  kg/m<sup>2</sup>, sedangkan penelitian Toohey<sup>94</sup> didapatkan rerata IMT yang lebih tinggi yaitu  $25,7 \pm 0,6$  kg/m<sup>2</sup>. Coudray dkk<sup>95</sup> menyatakan adanya korelasi positif antara IMT dan MDA. Peningkatan IMT akan berhubungan dengan peningkatan MDA. Pada penelitian ini status gizi tidak mengalami perubahan dan masih tergolong normal, hal ini dapat mengurangi pengaruh bias status gizi terhadap kadar MDA.

### 5.3.5. Asupan zat gizi

Data asupan energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan E subyek penelitian diperoleh dari *food record* 2x24 jam. Penilaian asupan dilakukan selama dua hari berturut-turut dengan satu hari kerja dan satu hari libur pada awal dan akhir perlakuan.

Rerata asupan energi awal pada kelompok perlakuan adalah  $2064,87 \pm 172,31$  kkal dan kelompok kontrol adalah  $2089,71 \pm 146,31$  kkal. Berdasarkan persentase asupan energi terhadap KET, pada kelompok perlakuan sebesar  $107,4 \pm 7,29\%$  atau tergolong cukup dan kelompok kontrol sebesar  $110,78 \pm 5,4\%$ , juga tergolong cukup. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai asupan energi awal perlakuan pada kedua kelompok. Demikian pula asupan energi akhir perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p = 0,52$ ) antara kelompok perlakuan ( $2048,25 \pm 112,97$  kkal) dan kelompok kontrol ( $2073 \pm 118,13$  kkal). Berdasarkan persentase asupan energi terhadap kebutuhan energi total (KET), pada kelompok perlakuan sebesar  $106,86 \pm 7,12\%$  atau tergolong cukup dan kelompok kontrol sebesar  $110 \pm 5,99\%$ , juga tergolong cukup. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai persentase asupan energi akhir perlakuan pada kedua kelompok. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Bloomer dkk<sup>79</sup> yang melihat asupan energi pada perokok ( $1850 \pm 666$  kkal/ hari).

Rerata asupan protein awal pada kelompok perlakuan adalah  $76,82 \pm 9,2$  g/hari dan kelompok kontrol adalah  $77,79 \pm 7,86$  g/hari. Berdasarkan persentase asupan protein terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar 15 (13-17) % atau tergolong cukup dan kelompok kontrol sebesar 15 (12-17)%, juga tergolong cukup. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai asupan protein awal perlakuan pada kedua kelompok ( $p = 0,866$ ). Demikian pula asupan protein akhir perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p = 0,41$ ) antara kelompok perlakuan ( $70,48 \pm 6,38$  g/hari) dan kelompok kontrol ( $68,91 \pm 4,95$  g/hari). Berdasarkan persentase asupan protein terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar 14 (12-16)% atau tergolong cukup dan kelompok kontrol sebesar 13 (12-15)%, juga tergolong cukup. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai persentase asupan protein akhir perlakuan pada kedua kelompok. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Puchaiwatananon<sup>14</sup> dan

Bloomer<sup>79</sup> yang melihat asupan protein pada perokok ( $60 \pm 7,5$  g/hari atau  $15 \pm 0,9\%$ ) dan ( $65 \pm 20$  g/hari atau  $18 \pm 8\%$ )

Rerata asupan lemak awal pada kelompok perlakuan adalah  $88,39 \pm 11,8$  g/hari dan kelompok kontrol adalah  $95,34 \pm 15,04$  g/hari. Berdasarkan persentase asupan lemak terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar  $37,37 \pm 5,02\%$  atau tergolong lebih dan kelompok kontrol sebesar  $39,50 \pm 5,45\%$ , juga tergolong lebih. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai asupan lemak awal perlakuan pada kedua kelompok ( $p = 0,225$ ). Demikian pula asupan lemak akhir perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p = 0,20$ ) antara kelompok perlakuan ( $70,48 \pm 6,38$  g/hari) dan kelompok kontrol ( $68,91 \pm 4,95$  g/hari). Berdasarkan persentase asupan lemak terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar  $32,16 \pm 4,51\%$  atau tergolong lebih dan kelompok kontrol sebesar  $34,22 \pm 5,68\%$ , juga tergolong lebih. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai persentase asupan lemak akhir perlakuan pada kedua kelompok. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Bloomer dkk<sup>79</sup> yang melihat asupan lemak pada perokok ( $66 \pm 28$  g/hari atau  $31 \pm 4\%$ ). Pada penelitian Marangon<sup>92</sup> didapatkan hasil yang juga meningkat yaitu sebesar  $111 \pm 29,9$  atau  $36,3 \pm 4,6\%$ .

Rerata asupan karbohidrat awal pada kelompok perlakuan adalah  $241,3$  ( $173,6-311,2$ ) g/hari dan kelompok kontrol adalah  $237,2$  ( $173,60-309,2$ ) g/hari. Berdasarkan persentase asupan karbohidrat terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar  $47$  ( $39-57$ )% atau tergolong cukup dan kelompok kontrol sebesar  $44$  ( $36-55$ )%, juga tergolong cukup. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai asupan karbohidrat awal perlakuan pada kedua kelompok ( $p = 0,492$ ). Demikian pula asupan karbohidrat akhir perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p = 0,54$ ) antara kelompok perlakuan ( $281,1$  ( $202,6-325,9$ ) g/hari) dan kelompok kontrol ( $279,15$  ( $202,6-311,7$ ) g/hari). Berdasarkan persentase asupan karbohidrat terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar  $53$  ( $45-63$ )% atau tergolong cukup dan kelompok kontrol sebesar  $52,5$  ( $42-61$ )%, juga tergolong cukup. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai persentase asupan karbohidrat akhir perlakuan pada kedua kelompok. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Bloomer dkk<sup>79</sup>

dan Marangon<sup>92</sup> yang melihat asupan karbohidrat pada perokok ( $242 \pm 85$  g/hari atau  $51 \pm 8\%$ ) dan ( $310,2 \pm 96,2$  g/hari atau  $45,8 \pm 5,6\%$ )

Persentase rerata asupan karbohidrat dan protein kedua kelompok terhadap asupan energi pada awal dan akhir perlakuan tidak berbeda bermakna dan tergolong cukup. Hal tersebut menunjukkan bahwa asupan makanan subyek tidak terlalu banyak berubah dari minggu ke minggu, karena pihak rumah makan sudah menyiapkan makanan untuk dikonsumsi para pekerja sehingga tidak memungkinkan untuk adanya variasi asupan makanan.

Persentase asupan lemak terhadap asupan energi pada subyek penelitian tergolong tinggi, karena selama penelitian, subyek tidak diberi konseling gizi tentang pembatasan asupan makanan terutama yang banyak mengandung lemak. Konseling gizi secara tidak langsung dapat menjadi faktor perancu (*confounding factor*) dalam penelitian ini, karena bila dilakukan konseling gizi, maka penurunan peroksidasi lipid menjadi tidak jelas apakah disebabkan karena pemberian suplementasi atau konseling gizi. Tetapi, pada akhir penelitian telah dilakukan konseling pada subyek penelitian mengenai makanan dengan gizi seimbang.

Asupan vitamin C pada penelitian ini meliputi asupan vitamin C yang berasal dari bahan makanan. Rerata asupan vitamin C awal perlakuan pada kelompok perlakuan dan kontrol  $12,67 \pm 1,27$  mg/hari dan  $13,02 \pm 1,17$  mg/hari. Berdasarkan persentase asupan vitamin C terhadap kebutuhan, pada kelompok perlakuan sebesar  $14,08 \pm 1,41\%$  atau tergolong kurang dan kelompok kontrol sebesar  $14,47 \pm 1,29\%$ , juga tergolong kurang. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai asupan vitamin C awal perlakuan pada kedua kelompok ( $p = 0,39$ ). Demikian pula asupan vitamin C akhir perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p = 0,48$ ) antara kelompok perlakuan ( $12,07 \pm 1,28$  mg/hari) dan kelompok kontrol ( $12,38 \pm 1,35$  mg/hari). Berdasarkan persentase asupan vitamin C terhadap kebutuhan, pada kelompok perlakuan sebesar  $13,41 \pm 1,42\%$  atau tergolong kurang dan kelompok kontrol sebesar  $13,75 \pm 1,49\%$ , juga tergolong kurang. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai persentase asupan vitamin C akhir perlakuan pada kedua kelompok. Hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Bloomer dkk<sup>79</sup> dan Lykkesfeldt<sup>93</sup> yang melihat asupan vitamin C pada perokok ( $37 \pm 20$  mg/hari) dan ( $76,9 \pm 36,1$  mg/hari).

Rerata asupan vitamin C tergolong pada penelitian ini tergolong kurang. Vitamin C umumnya banyak terdapat pada sayur dan buah. Hal tersebut sesuai dengan RISKESDAS 2007, dimana sebagian besar penduduk Indonesia (94,5 %) kurang mengonsumsi sayur dan buah.<sup>6</sup> Pada penelitian sebelumnya juga didapatkan data yang menunjukkan bahwa perokok kurang mengonsumsi sayur dan buah, dimana merupakan antioksidan yang dapat melindungi dari stres oksidatif.<sup>96,97,98</sup>

Asupan vitamin E pada penelitian ini meliputi asupan vitamin E yang berasal dari bahan makanan. Rerata asupan vitamin E awal perlakuan pada kelompok perlakuan dan kontrol 5,7 (4,1-7) mg/hari dan 5,3 (4,1-6,8) mg/hari. Berdasarkan %tase asupan vitamin E terhadap kebutuhan, pada kelompok perlakuan sebesar 38,1±6,34% atau tergolong kurang dan kelompok kontrol sebesar 36,37±5,49%, juga tergolong kurang. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai asupan vitamin E awal perlakuan pada kedua kelompok ( $p = 0,644$ ). Demikian pula asupan vitamin E akhir perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p = 0,94$ ) antara kelompok perlakuan 5,5 (4,6-6,4) mg/hari dan kelompok kontrol 5,6 (4,6-7,6) mg/hari. Berdasarkan persentase asupan vitamin E terhadap kebutuhan, pada kelompok perlakuan sebesar 37,61±3,74% atau tergolong kurang dan kelompok kontrol sebesar 38±6,1%, juga tergolong kurang. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna mengenai persentase asupan vitamin E akhir perlakuan pada kedua kelompok. Hasil ini sesuai dengan penelitian Bloomer dkk<sup>79</sup> yang melihat asupan vitamin E pada perokok (4±2 mg/hari). Kurangnya asupan vitamin E pada subyek penelitian dimungkinkan karena bahan makanan sumber vitamin E yang baik seperti minyak kecambah gandum, biji bunga matahari, dan kanola harganya tergolong mahal dan hanya didapatkan di supermarket besar. Sedangkan kacang-kacangan, biji-bijian, sayuran dan buah-buahan sebagai bahan makanan sumber vitamin E yang baik, dari analisis asupan hanya dikonsumsi dalam jumlah sedikit.

Secara umum hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa asupan vitamin C dan vitamin E yang berasal dari bahan makanan sumber pada subyek penelitian masih tergolong kurang, sehingga untuk mencukupi kebutuhannya diperlukan suplementasi. Tidak ada perbedaan bermakna asupan vitamin C dan E pada kedua

kelompok, sehingga dapat dikatakan perubahan kadar MDA pada kelompok perlakuan dan kontrol semata karena pemberian suplementasi vitamin C dan E. Data asupan energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan E pada dua kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

#### 5.4. Kadar dan perubahan MDA plasma

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar MDA plasma sebelum intervensi  $1,39 \pm 0,19$  nmol/mL pada kelompok perlakuan dan  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL pada kelompok kontrol. Tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar MDA plasma pada awal perlakuan antara dua kelompok. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan penelitian Bloomer dkk<sup>79</sup> yaitu  $0,919 \pm 0,32$  nmol/mL. Penelitian Marangon<sup>92</sup> untuk mengetahui kadar MDA plasma pada perokok dan bukan perokok didapatkan hasil kadar MDA plasma pada bukan perokok sebesar  $3,15 \pm 0,88$  nmol/mL, pada perokok dengan konsumsi  $<20$  batang/hari sebesar  $3,31 \pm 0,99$  nmol/mL dan pada perokok dengan  $>20$  batang/hari sebesar  $3,39 \pm 0,94$  nmol/mL ( $p = 0,117$ ). Walaupun hasil tersebut secara statistik tidak bermakna namun terlihat kadar MDA plasma lebih tinggi pada perokok dibandingkan bukan perokok. Penelitian Lykkesfeldt<sup>99</sup> membandingkan kadar MDA bukan perokok dan perokok, yaitu  $0,82 \pm 0,18$   $\mu$ mol/L dan  $1,06 \pm 0,35$   $\mu$ mol/L. Didapatkan hasil MDA yang lebih meningkat pada perokok ( $p = 0,0003$ ). Kadar MDA plasma yang berbeda-beda dapat disebabkan perbedaan karakteristik demografi subyek penelitian. Selain penelitian ini, belum ada data kadar MDA plasma pada perokok kretek filter di Indonesia.

Pada akhir perlakuan, rerata kadar MDA plasma sebesar  $1,18 \pm 0,22$  nmol/mL pada kelompok perlakuan dan  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL pada kelompok kontrol. Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna rerata kadar MDA plasma akhir perlakuan ( $p < 0,037$ ). MDA plasma merupakan marker peroksidasi lipid yang dapat menggambarkan tingkat stres oksidatif, termasuk pada perokok. Efek sinergis dari vitamin C dan vitamin E dapat berperan menurunkan peroksidasi lipid.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Puchaiwatananon dkk<sup>14</sup> pada perokok yang menunjukkan bahwa pada pemberian kombinasi vitamin C 500 mg

dan E 500 mg selama empat minggu, menurunkan MDA secara signifikan (dari  $1,42 \pm 0,09 \mu\text{mol/L}$  menjadi  $0,91 \pm 0,05 \mu\text{mol/L}$ ). Demikian pula dengan penelitian Hyun dkk<sup>15</sup>, dimana setelah suplementasi vitamin C dan E selama empat minggu terdapat penurunan kadar MDA plasma lebih besar pada kelompok perokok yang mendapat kombinasi vitamin C dan E, (dari  $3,0 \pm 0,7 \mu\text{mol/L}$  menjadi  $2,3 \pm 0,6 \mu\text{mol/L}$ ) dibandingkan kelompok perokok yang mendapatkan suplementasi secara tunggal.

Beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar MDA plasma adalah usia, IMT, DM, hiperkolesterolemia, hipertensi, aktivitas fisik.<sup>20</sup> Namun demikian pada penelitian ini, faktor *confounding* tersebut telah disingkirkan.



## BAB 6

### RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN

#### 6.1. Ringkasan

Penyakit kardiovaskular (PKV) adalah penyebab kematian nomor satu di negara maju, dan jumlah penderitanya meningkat dengan pesat di negara berkembang, termasuk Indonesia. Kebiasaan merokok merupakan salah satu faktor risiko penting PKV. Peningkatan konsumsi rokok akan meningkatkan jumlah radikal bebas dan hal ini dapat memicu peningkatan peroksidasi lipid yang akan menghasilkan berbagai macam produk, salah satunya adalah malondialdehid (MDA). Akibat peroksidasi lipid, fraksi LDL menjadi rentan untuk mengalami oksidasi oleh radikal bebas dan terjadi penurunan jumlah antioksidan endogen sehingga LDL lebih mudah ditangkap oleh makrofag. Oksidasi LDL merupakan awal terbentuknya sel busa (*foam cell*) yang berubah menjadi alur lemak (*fatty streak*), kemudian berkembang membentuk plak aterosklerosis.

Proses peroksidasi lipid dapat dikurangi dengan antioksidan, seperti vitamin C dan E. Vitamin C bekerja sebagai antioksidan larut air yang dapat menghambat radikal bebas sebelum radikal tersebut mencapai membran seluler, sedangkan vitamin E merupakan salah satu antioksidan lipofilik terbanyak di dalam LDL yang berfungsi melindungi LDL dari peroksidasi lipid dengan berperan sebagai pemutus rantai peroksidasi lipid dan penangkap radikal bebas. Dari suatu penelitian dibuktikan bahwa dengan pemberian kombinasi suplementasi vitamin C dan vitamin E pada perokok, ternyata dapat menurunkan kadar MDA plasma.

Penelitian ini merupakan uji klinis paralel, tertutup tunggal dan alokasi acak. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi suplementasi vitamin C dan vitamin E terhadap peroksidasi lipid yang dinilai dengan mengukur kadar MDA plasma sebagai biomarker peroksidasi lipid. Pengamatan dilakukan pada awal perlakuan dan akhir perlakuan pada dua kelompok yaitu kelompok yang mendapatkan vitamin C 500 mg dan vitamin E 400 IU serta kelompok yang mendapatkan plasebo selama empat minggu. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Juni 2010 sampai dengan Juli 2010. Subyek penelitian adalah pekerja laki-laki perokok kretek filter yang bekerja di rumah



makan, Jakarta Utara. Berdasarkan kriteria penelitian, didapatkan sejumlah 40 orang yang memenuhi kriteria sebagai subyek penelitian. Setelah didapatkan subyek penelitian kemudian dibagi menjadi dua kelompok dengan menggunakan randomisasi blok. Masing-masing kelompok terdiri dari 20 orang, yaitu untuk kelompok yang mendapatkan kombinasi vitamin C dan E, serta kelompok yang mendapatkan plasebo. Pada masa perlakuan terdapat satu orang *drop-out* dari kelompok vitamin C dan E, sedangkan dari kelompok plasebo, dua orang *drop-out*, hal ini terjadi karena subyek berhenti bekerja dengan alasan pribadi. Jumlah subyek yang memenuhi kriteria penelitian dan yang mengikuti penelitian secara lengkap dari kelompok vitamin C dan E 19 orang, dari kelompok plasebo berjumlah 18 orang.

Data penelitian diperoleh melalui wawancara, pemeriksaan antropometri serta pemeriksaan laboratorium MDA plasma. Pengumpulan data asupan makanan menggunakan metode *food record* 2x24 jam.

**Penelitian ini memperoleh hasil sebagai berikut :**

1. Hasil data demografi penelitian ini berdasarkan hasil uji statistik, karakteristik subyek penelitian sebelum perlakuan yang meliputi usia, konsumsi rokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa puasa, kadar kolesterol total, tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok. Hal tersebut menunjukkan sebaran subyek pada penelitian ini adalah homogen. Rerata usia subyek penelitian pada kelompok perlakuan dan kontrol masing-masing adalah 26 (23-35) dan 31,5 (20-35) tahun. Konsumsi rokok pada kelompok perlakuan dan kontrol yaitu 12 (10-18) dan 12 (9-18) batang/hari, pada subyek penelitian ini indeks Brinkman termasuk kategori ringan sampai sedang. Indeks Brinkman pada kelompok perlakuan dan kontrol yaitu  $184,05 \pm 51,06$  dan  $205,33 \pm 45,95$ , dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya ( $p = 0,271$ ). Tekanan darah pada kedua kelompok sama, dimana tekanan darah sistolik 120 (110-120) mmHg dengan  $p = 0,899$  dan tekanan darah diastolik 80 (70-80) mmHg dengan  $p = 0,26$ , dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya. Kadar glukosa darah puasa pada kelompok perlakuan 100,5 (96-106) mg/dl dan kontrol adalah 100,5 (94-110) mg/dl dengan p

- $=0,848$ , dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara keduanya. Kadar kolesterol total pada kelompok perlakuan  $147,25 \pm 5,03$  mg/dl dan kontrol  $149,5 \pm 4,06$  mg/dl dengan  $p = 0,187$ .
2. IMT sebelum perlakuan pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ). Pasca perlakuan hari ke 29, IMT subyek penelitian pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ). Pada uji statistik IMT H-8 dan H 29 kelompok perlakuan dan kontrol, tidak terdapat peningkatan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).
  3. Berdasarkan persentase asupan energi terhadap kebutuhan energi total (KET), pada kelompok perlakuan sebesar  $106,86 \pm 7,12\%$  dan kelompok kontrol sebesar  $110 \pm 5,99\%$ . Persentase asupan protein terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar 14 (12-16)% kelompok kontrol sebesar 13 (12-15)%. Persentase asupan karbohidrat terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar 53 (45-63)% atau dan kelompok kontrol sebesar 52,5 (42-61)%. Persentase asupan energi, protein, karbohidrat pada kedua kelompok tergolong cukup. Rerata persentase asupan lemak terhadap asupan energi kedua kelompok masing-masing tergolong lebih. Persentase asupan lemak terhadap asupan energi, pada kelompok perlakuan sebesar  $32,16 \pm 4,51\%$  dan kelompok kontrol sebesar  $34,22 \pm 5,68\%$ . Asupan vitamin C dan E kedua kelompok pada awal dan akhir perlakuan tergolong kurang. Berdasarkan persentase asupan vitamin C terhadap kebutuhan, pada kelompok perlakuan sebesar  $13,41 \pm 1,42\%$  dan kelompok kontrol sebesar  $13,75 \pm 1,49\%$ , sedangkan vitamin E pada kelompok perlakuan sebesar  $37,61 \pm 3,74\%$  dan kelompok kontrol sebesar  $38 \pm 6,1\%$ . Tidak terdapat perbedaan bermakna antara rerata asupan energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan E antara kedua kelompok.
  4. Kadar MDA plasma kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sebelum perlakuan masing-masing adalah  $1,39 \pm 0,19$  nmol/mL dan  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL. Tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar MDA plasma pada awal perlakuan antara dua kelompok. Pada akhir perlakuan, rerata kadar MDA plasma sebesar  $1,18 \pm 0,22$  umol/mL pada kelompok perlakuan dan  $1,31 \pm 0,13$

nmol/mL pada kelompok kontrol. Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna rerata kadar MDA plasma akhir perlakuan ( $p < 0,037$ ).

## 6.2. Kesimpulan

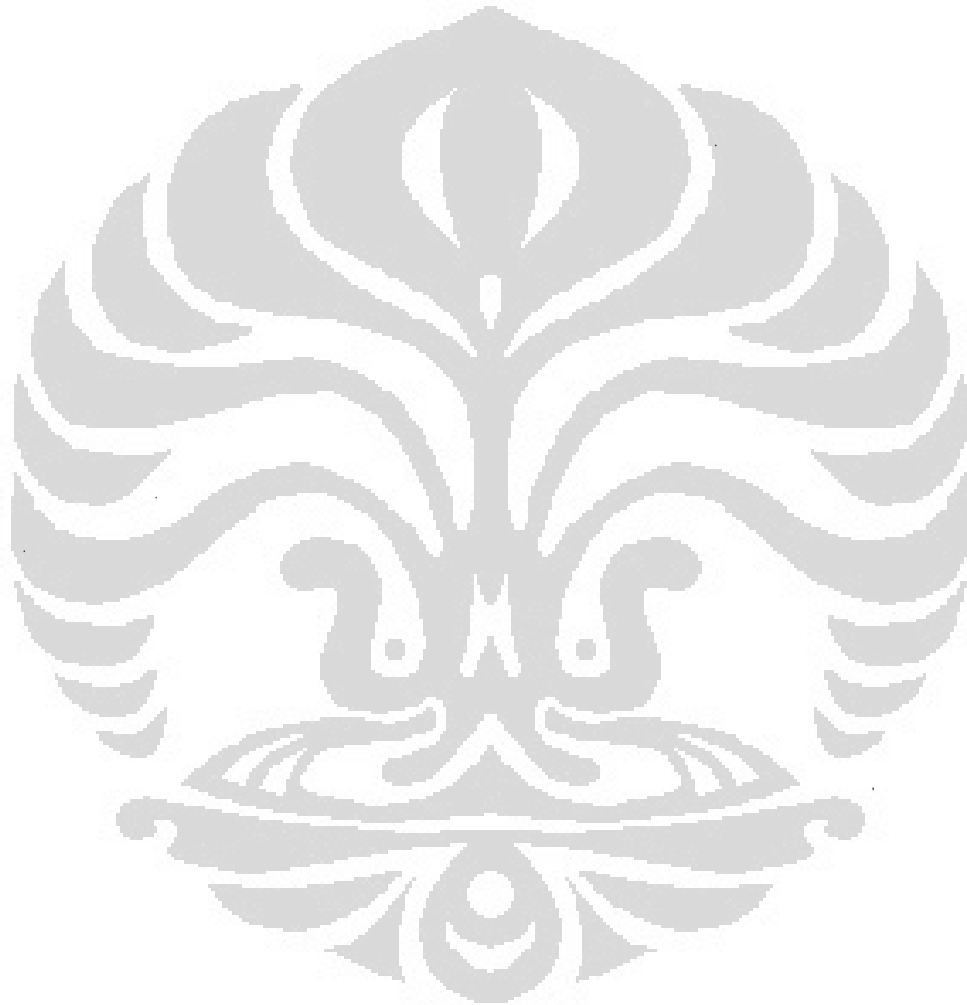
Pada penelitian pengaruh suplementasi vitamin C dan E terhadap kadar MDA plasma pada perokok kretek filter, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Rerata usia subyek penelitian pada kelompok perlakuan dan kontrol masing-masing adalah 26 (23-35) dan 31,5 (20-35) tahun. Semua subyek berjenis kelamin laki-laki, dengan rata-rata konsumsi rokok 9-18 batang/hari, dimana indeks Brinkman pada subyek ini termasuk kategori ringan-sedang. Tekanan darah, kadar glukosa puasa dan kadar kolesterol total dalam batas normal.
2. IMT sebelum dan sesudah perlakuan pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ).
3. Selama perlakuan, asupan energi, protein, karbohidrat subyek penelitian tergolong cukup, asupan lemak tergolong lebih, asupan vitamin C dan E tergolong kurang pada kedua kelompok. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara rerata asupan energi, protein, lemak, karbohidrat, vitamin C dan E antara kedua kelompok.
4. Pada akhir perlakuan, terdapat perbedaan bermakna rerata kadar MDA plasma antara kelompok perlakuan ( $1,18 \pm 0,22$  nmol/mL) dan pada kelompok kontrol ( $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL) dengan  $p < 0,037$ .

## 6.3. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan pemeriksaan kadar vitamin C dan vitamin E plasma supaya efektivitas suplementasi vitamin C dan vitamin E yang diberikan secara oral dapat diketahui.
2. Pada subyek penelitian ini, perlu diberikan konseling gizi pada perokok tentang makanan dengan gizi seimbang dan perlunya meningkatkan konsumsi sayuran dan buah-buahan untuk mendapatkan manfaat vitamin C dan vitamin E dari bahan makanan sumber.

3. Suplementasi oral vitamin C 500 mg/hari dan E 400 IU/hari dapat direkomendasikan bagi para perokok kretek filter, dalam rangka menurunkan stres oksidatif sehingga diharapkan risiko PKV menurun.



## SUMMARY, CONCLUSIONS AND SUGGESTIONS

### Summary

Cardiovascular disease is major causes of death in developed countries and the number of patient keep increasing from year to year, including in Indonesia. Cigarettes smoke is one of the avoidable causes for diseases such as cardiovascular disease. Long term smoking will increase the free radical and it lead to lipid peroxidation, such as malondialdehyde (MDA). Because of the lipid peroxidation, LDL fraction will oxidized by free radicals and decreasing endogenous antioxidant, once LDL modified it can easily taken up by macrophages. LDL which is modified will activates the foam cells, fatty streak present and leads to plaque of atherosclerosis. The lipid peroxidation can be inhibited by antioxidant, such as vitamin C and E. Ascorbic acid is the most abundant and effective water soluble antioxidant in human plasma, which can scavenge free radicals, while vitamin E is a lipophilic chain breaking antioxidant in LDL that protecting LDL from oxidation by prevents lipid peroxidation and scavenge free radicals. In vivo investigations have consistently demonstrated that combination of vitamin C and E in smokers can decrease malondialdehyde plasma.

This study was a parallel clinical, closed, single and random allocation trial. This study was to investigate the effect of vitamin C and E on lipid peroxidation, by measuring the MDA plasma as a biomarker of lipid peroxidation. Observations was made before and after study, comparing the intervention group with vitamin C 500 mg and vitamin E 400 IU (P), and control group with placebo only (K) during 4 weeks. This research was conducted from June 2010 until July 2010. Subjects were male, whom smoke clove cigarettes and work in restaurant, in North Jakarta. Based on research criterias fulfillment, 40 patients are available and agreed in the research informed consent. Subjects then allocated by block randomizations, and divided into 20 subjects as the intervention group while 20 others as control group. During the study, one person from the intervention group and two person from the control group were dropped out. During 4 weeks evaluation, 19 person from the intervention group and 18 person from control

group have succeed the research procedure completely. Data collected by interviews, anthropometric examination, measured blood pressure, laboratory examination, plasma MDA. The dietary habits of each participants using 2x24 hours food record.

### **Results :**

1. Demographic data results based on statistics; characteristics subjects before intervention were age, cigarettes consumption, Brinkman index, blood pressure, blood glucose, total cholesterol, nutritional status and consumption have no significant differences. This describes same proportions between two groups. The median age of research subjects were 26 (23-35) years old in the intervention group and 31,5 (20-35) years old in control group. Cigarettes consumption in the intervention and control group were 12 (10-18) and 12 (9-18) cigarettes/day, while Brinkman index is mild to moderate. Brinkman indeks in the intervention and control group were  $184,05 \pm 51,06$  and  $205,33 \pm 45,95$ , there were no significant differences in both groups ( $p = 0,271$ ). Blood pressure in both groups were same, systolic blood pressure were 120 (110-120) mmHg,  $p = 0,899$  and diastolic blood pressure were 80 (70-80) mmHg,  $p = 0,26$ , there were no significant differences in both groups. Blood glucose in the intervention group were 100,5 (96-106) mg/dL and control group were 100,5 (94-110) mg/dL,  $p = 0,848$ . Total cholesterol in the intervention group were  $147,25 \pm 5,03$  mg/dL and control group were  $149,5 \pm 4,06$  mg/dL,  $p = 0,187$ .
2. IMT before and after intervention in both groups showed no significant differences ( $p > 0,05$ ). In statistics, IMT on H-8 and H29 also showed no significant differences ( $p > 0,05$ ).
3. During intervention, intake percentage energy, proteins, and carbohydrate intake were adequate in both groups. The percentage intake of fat in both groups were tends to be excess. Before and after intervention, vitamin C and E in those two groups were tends to be inadequate.
4. Initial, MDA plasma in the intervention and control group were  $1,39 \pm 0,19$  nmol/mL and  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL. There were no significant differences. After intervention, the average plasma MDA and control group were  $1,18 \pm 0,22$

nmol/mL in the intervention and  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL in control group,  $p < 0,037$ , which is significant.

## 6.2. Conclusions

1. The median age of research subjects were 26 (23-35) years old in the intervention group and 31,5 (20-35) years old in control group. All of the subjects were male, the average cigarettes consumption in both group were 9-18 cigarettes/day, while Brinkman index was mild to moderate. Blood pressure, blood glucose and total cholesterol were normal.
2. IMT before and after intervention in both groups showed no significant differences ( $p > 0,05$ ).
3. During intervention, intake percentage energy, proteins, and carbohydrate intake were adequate in both groups. The percentage intake of fat in both groups were tends to be excess. Before and after intervention, vitamin C and E in those two groups were tends to be inadequate. There were no significant different between intake of energy, proteins, fat, carbohydrate, vitamin C and E in both group.
4. After intervention, the average MDA plasma in the intervention and control group were  $1,18 \pm 0,22$  nmol/mL and  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL,  $p < 0,037$ , which is significant.

## 6.3. Recommendations

1. Similar studies were needed to obtain vitamin C and E plasma level to directly evaluate both supplementation effectiveness which administered orally.
2. Provide nutritional counselling to this subjects (smokers), explanation about balanced nutritional foods and consume foods rich in vitamin C and E.
3. Vitamin C 500 mg and E 400 IU/day supplementation which administered orally can be recommended for clove cigarettes smokers, in order to decreasing the risk of cardiovascular diseases.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan RI. Situasi derajat kesehatan. Profil kesehatan Indonesia 2006. Jakarta: Depkes, 2007.
2. Aditama TY. Penyakit Akibat Rokok: Masalah merokok dan penanggulangannya. Patarai AAP, editor. Edisi ke 1. 2001. Hal. 1-7.
3. Bahaya akibat tembakau.  
[http://tarunanusantaramgl.sch.id/id2/index.php?option=com\\_content&task=view&id=180&Itemid=96](http://tarunanusantaramgl.sch.id/id2/index.php?option=com_content&task=view&id=180&Itemid=96). (Diakses tanggal 19 Oktober 2010)
4. Jumlah Perokok di Jakarta 3 Juta Orang.  
[http://metro.vivanews.com/news/read/10079-jakarta\\_dihuni\\_3\\_juta\\_perokok](http://metro.vivanews.com/news/read/10079-jakarta_dihuni_3_juta_perokok). (Diakses tanggal 10 Februari 2010).
5. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI). PPOK. Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia, 2001. Hal. 4.
6. Departemen Kesehatan RI. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Nasional 2007. Jakarta: Depkes, 2008.
7. Libby P. Vascular disease : Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editor. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Edisi ke 17. New York : McGraw-Hill. 2008. Hal. 1425-86.
8. Raitakari TO, Adams RM, McCredie JR, Griffiths AK, Stocker R, Celermajer SD. Oral Vitamin C and Endothelial Function in Smokers : Short-Term Improvement, But No Sustained Beneficial Effect. *JACC* 2000;1616-21.
9. Bruno SR, Leonard WS, Jun Li, Bray MT, Traber GM. Lower plasma  $\alpha$ -tocopherol supplementation suggests decreased vitamin E metabolism in smokers. *Am J Clin Nutr* 2005;1052-9.
10. Levine M, Katz A, Padayatty JS. Vitamin C. Dalam: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editor. *Modern Nutrition in Health and Disease* Edisi ke 10. Baltimore: Lippincott William & Wilkins, 2006. Hal. 507-524.
11. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism*. Edisi ke 4. United States of America: Thomson wadsworth, 2005. Hal. 128-67, 260-75, 352-61.
12. Skeaff M. Vitamin C dan E. Dalam : Mann J, Truswell AS, editor. *Essentials of human nutrition*. Edisi ke 2. New York: Oxford University Press Inc, 2005. Hal. 231-47.



13. Hyun AK, Hye SM, Ae WHA, Hwa JI, Hong ML, Man SR, Kyung HS. Effects of Vitamin C and Vitamin E Supplementation on Anti-oxidative System of the Smokers and Non smokers. *J Community Nutrition*. 2004;6(3):146-154.
14. Puchaiwatananon OD, Jeampiriyakul N, Nopchinda S, Komindr. Effects of Vitamin C and E Supplementation on Lipid Peroxidation in Smokers. *Rama Med J* 2004;27:7-12.
15. Carr AC, Frei BT. A new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effect in humans. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1086-1107.
16. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: What Role Do Play in Physical activity? *Am J Clin Nutr* 2000;72:637S-64S.
17. Halliwell B, Poulsen HE. Oxidative stress. In : Halliwell B, Poulsen HE, editors. *Cigarettes smoke and oxidative stress*. Berlin: springer-verlag. 2006. Hal 1-5.
18. Cristen Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am. J. Clin. Nutr* 2000;71:621-629.
19. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Edisi ke 4. New York:Oxford University Press. 2007. Hal. 301.
20. Asikin N. Antioksidan endogen dan penilaian status antioksidan. Dalam *Kursus Penyegar Radikal Bebas dan Antioksidan dalam kesehatan : dasar, aplikasi dan pemanfaatan bahan alam*. Bagian Biokimia FKUI. 2001.
21. Peroksidasi lipid .  
[http://www.pharmainfo.net/files/images/stories/article\\_images/TheFreeRadicalMechanismOfLipidPeroxidation.jpg](http://www.pharmainfo.net/files/images/stories/article_images/TheFreeRadicalMechanismOfLipidPeroxidation.jpg) (Diakses tanggal 3-09-2010)
22. Muchtadi D. *Gizi anti penuaan dini*. Bandung: Penerbit Alfabeta; 2009. Hal. 108
23. Weber C, Erl W, Weber K, Weber PC. Increased adhesiveness of isolated monocyted to endothelium is prevented by vitamin C intake in smoker. *Circulation* 1996;93:1488-94.
24. Church DF, Pryor WA. Free medical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ health perspect* 1985;64:111-126.
25. Hoffman D and Hoffman I. The changing cigarette. *J. Toxicol. Environ. Health*. 1999;50:307-364.

26. Mangku Sitepoe. *Usaha Mencegah Bahaya Merokok*. Jakarta: PT. Grasindo.1997.
27. Senyawa dan gugus kimia rokok. <http://bloraku.com/forums/masa-kini/1105-fatwa-mui-rokok-haram->.(Diakses tanggal 18 Agustus 2009).
28. Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke. Radical, hydrogenperoxide, peroxyxynitrate and peroxyxynitrite. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 686:12-27.
29. Mimi N, Padmawati S, Danardono M, Prabandari Y, Mark N. Reading culture from tobacco advertisements in Indonesia. *Tobacco Control* 2009;18:98-107.
30. Guidotti TL, Laing L, Prakash UBS: Clove cigarettes-The basis for concern regarding health effects. *West J Med* 1989;151:220-228.
31. Perilaku Merokok di Indonesia menurut Susenas dan SKRT 1995. [http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/cdk\\_125\\_kesehatan\\_masyarakat.pdf](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/cdk_125_kesehatan_masyarakat.pdf) (Diakses tanggal 10 Februari 2010).
32. Eugenol structure. [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eugenol\\_acsv.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eugenol_acsv.svg) (Diakses tanggal 6 April 2010).
33. Malson LJ, Lee ME, Murty R, Moolchan TE, Pickworth BW. Clove cigarette smoking: biochemical, physiological and subjective effects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2003. Hal 739-745.
34. Suharjo, EPS. Rokok vs Kesehatan Publik Refleksi Hari Kesehatan Sedunia 7 April. *Republika Online*. 2003.
35. Norman MK and Jeremiah S. *Pencegahan Penyakit Jantung Koroner*. Terjemahan Sukwan Handali. Jakarta : Buku Kedokteran EGC. 1994.
36. Efek samping nikotin [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Side\\_effects\\_of\\_nicotine.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Side_effects_of_nicotine.svg). (Diakses tanggal 7 April 2010)
37. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 2003 tentang Pengamanan Rokok bagi Kesehatan. Jakarta. 2003.
38. American Heart Association. International cardiovascular disease statistics. *Statistical fact sheet-populations*. 2007.
39. Suryadipraja RM. Peran inflamasi pada pathogenesis aterosklerosis, dibacakan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan Penyakit Dalam. Jakarta. 2001.

40. Blankenberg S, Barboux S and Tired L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003;170(2):191-203.
41. Krummel DA. Medical Nutrition Therapy in Cardiovascular Disease. In: Mahan LK, Escott- Stump S, editors. *Krause's Food, Nutrition, & Diet Therapy*. Edisi ke 11. Philadelphia, Pennsylvania : Saunders Elsevier, 2004. Hal 861-899.
42. Aghdassi E, Royall D, Allard JP. Oxidative stress in smokers supplemented in vitamin C. *Internat. J. Vit Nutr Res* 1999;69(1):45-51.
43. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM. Non invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-5.
44. Sibernagl S, Lang F. Teks dan atlas berwarna patofisiologi. Hipotesis respon terhadap luka pada pembentukan aterosklerosis. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta. 2007. Hal 236-239.
45. Narins DMC. Vitamins, dalam *Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy* Mahan LK Stump SE, editors. Edisi ke 9. 1996. Hal 110-4.
46. Ball GFM. Vitamin C. Dalam: *Vitamin in foods: analysis, bioavailability, and stability*. CRC Press. Taylor & Francis Group. 2006. Hal 289-305.
47. Ascorbic acid structure.  
[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ascorbic\\_acid\\_structure.png](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ascorbic_acid_structure.png).  
(Diakses tanggal 18 Agustus 2009).
48. Ascorbic Acid.  
<http://wwwchem.csustan.edu/chem1112/IMAGES/ASCORBIC.JPG>  
(Diakses tanggal 18 Agustus 2009).
49. Thurnham DI, Bender DA, Scott J, Halsted CH. Water Soluble vitamins. Dalam : *Human Nutrition and dietetics*. Garrow JS, James WPT, Ralph A, editors. Harcourt Publishers Limited, United Kindom. 2000. Hal 249-57.
50. Johnston CS. Vitamin C. Dalam: *Present knowledge in Nutrition*. Edisi ke 8. 2000. Hal 175-91.
51. Schectman G, Byrd JC, Hoffman R. Ascorbic acid requirements for smokers: analysis of a population survey. *Am J Clinical Nutr* 1991; 53:1466-70.
52. Setiawan B, Rahayuningsih S. Angka Kecukupan vitamin larut air. Dalam *:Angka Kecukupan Gizi dan Pelabelan Gizi*. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi 2004. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 2004. Hal. 355-72.

53. Naidu KA. Vitamin C in human health and disease is still a mystery ? An overview. *Nutrition Journal* 2003 2:7.
54. Insel P, Turner RE, Ross D. 2002 Fat-Soluble Vitamins. Dalam: 2002 Update Nutrition. Jones and Bartlett Publishers, Boston. 2002. Hal. 327 – 365.
55. Traber MG. Vitamin E, dalam *Modern Nutrition in Health and Disease* Troy DB, Hauber MJ, O'Brien MA, Johnson KP, editors. Edisi ke-10. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore. 2006. Hal. 396 – 411.
56. Sies H dan Stahl W. Vitamin E and C,  $\beta$ -carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1311-1321.
57. Gallagher ML. Vitamins : Krause's Food, Nutrition & Diet Therapy. In: Mahan LK dan Escott Stump S, editors. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. Edisi ke 11. 2004. Hal 75-119.
58. Packer L, Obermuller, Jevic UC. Vitamin E: Introduction dalam *The Antioxidant Vitamin C and E*. In: Packer L, Traber M G, Kraemer K and Frei B, editors. AOCS Press Illionis. 2002. Hal 133-151.
59. Papas AM. Vitamin E : Tocopherols and Tocotrienol dalam *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*. In: Papas AM, editor. Florida: CRC Press; 1999. Hal 189-210.
60. Chow CK. Vitamin E: Biochemical and Physiological Aspect of Human Nutrition. In: Stipanuk MH, editor. Philadelphia: WB Saunders Company. 2000. Hal 584-598.
61. Institute of Medicine. *Dietary Reference Intake for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. Washington DC: National Academy Press. 2000. Hal 186-283.
62. Berdanier CD. Vitamin E: Advanced nutrition Micronutrients. United States of America: CRC Press. 1998. Hal. 52-9.
63. Bender DA. *Nutritional Biochemistry of the Vitamins*. Edisi ke 2. Cambridge: University Press. 2003. Hal 109-130.
64. Duta A and Duta SK. Vitamin E and its role in the prevention of atherosclerosis and carcinogenesis : a review. *J Am Coll Nutr* 2003;22(4), 258-268.
65. Jiang Q, Christen S, Shigenaga MK, Ames BC.  $\gamma$ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am J Clin Nutr* 2001;74. 714-22.

66. Azzi A, Breyer S, Feher M, Ricciarelli R, Stoker A, Zimmer S, and Zingg J-M. Specific cellular responses to  $\alpha$ -tocopherol. *J Nutr* 2000;130:1649-1652.
67. Brigelius FR, Kelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg JM, Azzi A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr* 2002;76:703-716.
68. Jalur metabolisme vitamin E. [http://www.eisai.co.jp/evita\\_e/ekiso4.html](http://www.eisai.co.jp/evita_e/ekiso4.html), 2005. (Diakses tanggal 7 April 2010)
69. Traber GM. Vitamin E. Dalam: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editor. *Modern nutrition in health and disease*. Edisi ke 10. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1999. Hal. 296-409.
70. Evans WJ. Vitamin E, Vitamin C and Exercise. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(S):647S-652S.
71. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism*. Edisi ke 4. United States of America: Thomson wadsworth. 2005. Hal 128-67, 260-75, 352-61.
72. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species. Reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1716-23.
73. Purwastyastuti. Relation of lipid peroxides to food habit, selected coronary heart disease risk factors and vitamin E supplementation in the elderly. [Dissertation]. Jakarta: Post Graduate Program University of Indonesia; 2000.
74. Muhilal, Sulaeman A. Angka Kecukupan vitamin larut lemak. Dalam: Angka Kecukupan Gizi dan Pelabelan Gizi. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi 2004. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2004. Hal. 331-51.
75. Meydani SN, Beharka AA. Recent development in vitamin E and immune response. *Nutrition Reviews* 1996. Hal 56:S49-S58.
76. Almatier S. Prinsip dasar ilmu gizi. Jakarta: Gramedia pustaka utama, 2006. Hal. 173-9
77. Gibson RS. *Principles of Nutritional Assessment*. Edisi ke 2. New York: Oxford University Press. 2005. Hal. 44-5, 273-93, 529-40.
78. Solak ZA, Kabaroglu C, Cok G, Parildar Z, Bayindir U, Ozmen D, Bayindir O. Effect of different levels of cigarette smoking on lipid peroxidation, glutathione enzymes and paraoxonase 1 activity in healthy people. *Clin Exp Med* 2005;5(3):99-105.

79. Bloomer RJ. Decreased blood antioxidant capacity and increased lipid peroxidation in young cigarette smokers compared to non smokers : Impact of dietary intake. *Nutrition-Journal* 2007;6-39.
80. Tejinder G, Anita K, Simmerpreet. Effect of Supplementation of Vitamin C Antioxidant on the Nutritional Profile of Male Smokers. *J Hum Ecol* 2005;18(3):239-243.
81. Joel AS, Jeffrey AT. Relation of Serum Ascorbic Acid to Mortality Among US Adults. *J Am Coll Nutr* 2001;20(3):255-63.
82. Munro, LH, Burton G, Kelly FJ, Plasma RRR-alpha-tocopherol concentration are lower in smokers than in non-smokers after ingestion of a similar oral load of this antioxidant vitamin. *London: Clin Sci.* 1997. Hal 92:87-93.
83. Jialal I, Fuller CJ, Huet BA. The effect of alpha-tocopherol supplementation on LDL oxidation. A dose response study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:190-8.
84. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 Report. *JAMA* 2003; 289:2560-72.
85. PB PERKENI. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia. Cetakan pertama. Jakarta: PB PERKENI. 2006. Hal 1-19.
86. PERKENI. Petunjuk penatalaksanaan dislipidemia. Jakarta. PB. PERKENI. 2004. Hal. 1-2.
87. Badan Pusat Statistik. Profil Kependudukan Indonesia. Badan Pusat Statistik, Jakarta, 1996. <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-sri%20rahayu.pdf> (diakses 16 November 2009).
88. WHO-WRPO. The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment. Health Communication Australia, 2000. Hal. 22. Dalam <http://www.diabetes.com> (diakses tanggal 1 Oktober 2009).
89. Butte NF, Caballero B. Energy Needs: Assessment and Requirements. Dalam: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern Nutrition In Health and Disease*. Edisi ke 10. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins. 2006. Hal. 136-48.
90. Hardinsyah, Tambunan V. Kecukupan energi, protein, lemak dan serat makanan. Dalam: *Angka Kecukupan Gizi dan Pelabelan Gizi*. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi 2004. Jakarta : Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2004. Hal. 317-28.

91. Buzzard M. 24-hour Dietary Recall And Food Record Methods. Dalam Willett W, editor. *Nutritional Epidemiology*. New York: Oxford University Press. 1998. hal. 50-73.
92. Marangon K, Herbeth B, Lee Comte. Diet, antioxidant status, and smoking habits in French man. *Am J Clin Nutr* 1998;50:115-20.
93. Lykkesfeldt J, Christen S, Wallock LM, Chang HH, Jacob RA, Ames BN. Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000;71(2):530-536
94. Toohey L, Harris MA, Allen KGD, Melby CL. Plasma Ascorbic Acid Concentrations Are Related to Cardiovascular Risk Factors in African-Americans. *J. Nutr.* 1996;126:121-128
95. Coudray C, Roussel AM, Mainard F, et al. Lipid peroxidation level and antioxidant micronutrient status in a pre-aging population: correlation with chronic disease prevalence in a French epidemiological study (Nantes, France). *J Am Coll Nutr* 1997;16:584-91.
96. Morabia A, Wynder EL. Dietary habits of smokers, people who never smoked, and exsmokers. *Am J Clin Nutr* 1990;52:933-937.
97. Serdula MK, Byers T, Mokdad AH, Simoes E, Mendlein JM, Coates RJ. The association between fruit and vegetable intake and chronic disease risk factors. *Epidemiology* 1996;7:161-165.
98. Preston A. Cigarette smoking-nutritional implications. *Prog Food Nutr Sci* 1991;15:183-217.
99. Lykkesfeldt J, Viscovich M, Poulsen HE. Plasma malondialdehyde is induced by smoking: a study with balanced antioxidant profiles. *British Journal of Nutrition* 2004;92:203-206.

## MANUSCRIPT

### EFFECTS OF VITAMIN C AND E SUPPLEMENTATION ON PLASMA MALONDIALDEHYDE IN CLOVE CIGARETTES SMOKERS

Slamat E, Soerjodibroto W, Hakim L

#### ABSTRACT

**Objective.** To investigate the effects of vitamin C and E supplementation on plasma malondialdehyde in clove cigarettes smokers during four weeks in Jakarta. **Methods.** This is a parallel randomized single-blind clinical study between interventional group with vitamin C and E supplementation (P) and control group with placebo (K). Forty clove cigarettes smokers in Restaurant, Jakarta had fulfilled the criteria and recruited in the research. Subjects were allocated by block randomization into intervention and control group. Intervention group treated with vitamin C 500 mg and vitamin E 400 IU daily for 4 weeks, while control group treated with placebo. Data collection includes demographic characteristic (age, smoking habits, Brinkman index, blood pressure, blood glucose, total cholesterol), body mass index (BMI), daily nutrient analysis, plasma malondialdehyde. Statistical analysis using unpaired t-test or Mann Whitney test with significant level at  $p < 0,05$ . **Results.** Demographic characteristic (age, smoking habits, Brinkman index, blood pressure, blood glucose, total cholesterol), body mass index (BMI), daily nutrient analysis, plasma malondialdehyde between both groups were homogen. Initial, plasma MDA in the intervention group and control group were  $1,39 \pm 0,19$  vs  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL. At the end, plasma MDA were  $1,18 \pm 0,22$  in the intervention group and  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL in control group ( $p < 0,037$ ). **Conclusion.** After supplementation of vitamin C 500 mg/day and vitamin E 400 IU/day during 4 weeks, showed significantly differences average of MDA plasma level between two groups. **Key Words.** Vitamin C, vitamin E, antioxidant, malondialdehyde plasma, clove cigarettes smokers.

#### INTRODUCTION

Smoking has been long associated with an increased risk of developing cardiovascular disease including atherosclerosis.<sup>1</sup> Cigarettes smoke contains numerous compounds emitted as gases and condensed tar particles, many of them being oxidants and pro-oxidants, capable of producing free radicals, thus enhancing lipid peroxidation and the generation of malondialdehyde (MDA).<sup>2</sup> In normal healthy human, the free radicals formed are quenched and removed by antioxidant defence mechanisms, but in smokers this removal of free radical is disturbed because of depletion of antioxidant nutrients by smoke and this, results in oxidative stress.<sup>3,4</sup> Lipid peroxidation is autocatalytic process which is a common consequence of cell death. Polyunsaturated fatty acids of the membrane are peroxidized by free radical mediated reactions. MDA is one of the end-products in the lipid peroxidation process.<sup>5</sup>

Smokers have 15-20% lower concentrations of ascorbate than do non smokers and possibly tocopherols have a high turnover in smokers. Antioxidants like vitamin C and E prevent free radicals from causing peroxidation of unsaturated fatty acids by reacting with free radicals. As a consequence, they take important roles in protecting the human body from the oxidative stress and



recovering the damaged cells and tissues. Ascorbic acid is the most abundant and effective water soluble antioxidant in human plasma, which can scavenge free radicals, while vitamin E is a lipophilic chain breaking antioxidant in LDL that protecting LDL from oxidation by prevents lipid peroxidase and scavenge free radicals. In vivo investigations have consistently demonstrated that combination of vitamin C and E in smokers can decrease malondialdehyde.<sup>6</sup>

This study was a parallel clinical, closed, single and random allocation trial. This study was to investigate the effect of vitamin C and E on lipid peroxidation, by measuring the MDA plasma as a biomarker of lipid peroxidation.

## **METHODS**

### **Subjects**

This research designed as parallel clinical study that compares the experimental group with vitamin C 500 mg/day and vitamin E 400 IU/day with control group with placebo during four weeks. Subjects were healthy male, 20-35 years old, normal body mass index, whom smoke clove cigarettes and work in restaurant, in North Jakarta, consume clove cigarettes <600 cigarettes (based on index Brinkman). Patients with hypertension, hypercholesterolemia, diabetes mellitus and who consume antioxidant are not included in this research.

Based on research criterias fulfillment, 40 patients are available and agreed in the research informed consent. Subjects then allocated by block randomizations, and divided into 20 subjects as the intervention group while 20 others as control group. During the study, one person from the intervention group and two person from the control group were dropped out. During four weeks evaluation, 19 person from the intervention group and 18 person from control group have succeed the research procedure completely. This research has been approved by ethical committee in Faculty of Medicine University of Indonesia.

### **Study measurements**

Data was obtained from interview consists of age, cigarettes consumption, index Brinkman, blood pressure measurement, laboratory examination (blood glucose, total cholesterol). Moreover, antropometric measurement has been done to obtain body weight, body height, and body mass index. Documenting intakes of energy, protein, fat, carbohydrate, antioxidant (consists of vitamin C and vitamin E) has also been done during intervention by using 2x24 hours food record and analyzed by Nutrisurvey 2007.

Laboratory examinations were using venous blood (3 mL) to examine MDA plasma level as oxidative stress parameter. Blood has been collected in the morning before and after interventions. MDA plasma examinations were using Spectrophotometer in Prodia laboratory.

### **Statistical Analyses**

Data was analyzed by *Statistical Package for Social Science* (SPSS) version 11.5 program. Data normality was analyzed by using Shapiro Wilk test. Comparison analyses between two groups results by using unpaired t-test or Mann-Whitney test with significance limit at  $p < 0,05$ . Correlation test was using Pearson test.

## RESULTS

The mean age of research subjects were 26 (23-35) years old in the intervention group and 31,5 (20-35) years old in control group. Cigarettes consumption in the intervention and control group were 12 (10-18) and 12 (9-18) cigarettes/day, while Brinkman index was mild to moderate. Brinkman indeks in the intervention and control group were 184,05±51,06 and 205,33±45,95. Blood pressure in both groups were same, systolic blood pressure were 120 (110-120) mmHg,  $p = 0,899$  and diastolic blood pressure were 80 (70-80) mmHg,  $p = 0,26$ , there were no significant differences in both groups. Blood glucose in the intervention group were 100,5 (96-106) mg/dL and control group were 100,5 (94-110) mg/dL,  $p = 0,848$ . Total cholesterol in the intervention group were 147,25±5,03 mg/dL and control group were 149,5±4,06 mg/dL,  $p = 0,187$ . All subjects consumed energy achieved the recommended diet with an average of 107,40±7,29% in the intervention group and 110,78±5,40% in control group. The average intake of protein was adequate between two groups with intake percentage are 15 (13-17)% in the intervention group and 15 (12-17)% in control group. While the average fat consumption was tends to be excess with 37,7±5,02% in the intervention group and 39,50±5,45% in control group. The average intake of carbohydrate was adequate between two groups with intake percentage are 47 (39-57)% in the intervention group and 52,5 (42-61)% in control group. There were no significant differences in energy, protein, fat, carbohydrate, vitamin C and E intake during interventions between two groups. Pre-intervention database showed no significant characteristic differences between two groups. That may concluded these two groups were similar. (Table 1)

Table 1. Baseline characteristic between intervention and control group consists of age, cigarettes consumption, Brinkman index, blood pressure, blood glucose, total cholesterol, body mass index, nutritional intake during intervention, pre-intervention MDA level.

Variable	Intervention group (n=19)	Control group (n=18)	P
Age (years)	26 (23-35) <sup>b</sup>	31,5 (20-35) <sup>b</sup>	0,784* <sup>mw</sup>
Cigarettes consumption (cigarettes/day)	12 (10-18) <sup>b</sup>	12 (9-18) <sup>b</sup>	0,962* <sup>mw</sup>
Brinkman index	184,05 ± 51,06 <sup>a</sup>	205,33±45,95 <sup>a</sup>	0,271* <sup>u</sup>
Systolic blood pressure (mmHg)	120 (110-120) <sup>b</sup>	120 (110-120) <sup>b</sup>	0,899* <sup>mw</sup>
Diastolic blood pressure (mmHg)	80 (70-80) <sup>b</sup>	80 (70-80) <sup>b</sup>	0,26* <sup>mw</sup>
Blood glucose (mg/dL)	100,5 (94-106) <sup>b</sup>	100,5 (94-110) <sup>b</sup>	0,848* <sup>mw</sup>
Total cholesterol (mg/dL)	147,25±5,03 <sup>a</sup>	149,5±4,06 <sup>a</sup>	0,187* <sup>u</sup>
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	20,43± 0,83 <sup>a</sup>	20,13± 1,09 <sup>a</sup>	0,346* <sup>u</sup>
KET (kcal)	1924,11± 120,90 <sup>a</sup>	1885,94± 85,24 <sup>a</sup>	0,273* <sup>u</sup>
Energy Intake (kcal)	2064,87± 172,31 <sup>a</sup>	2089,71± 146,31 <sup>a</sup>	0,639* <sup>u</sup>
% intake towards KET	107,40 ± 7,29 <sup>a</sup>	110,78± 5,40 <sup>a</sup>	0,118* <sup>u</sup>
Protein intake (g)	76,82± 9,20 <sup>a</sup>	77,79± 7,86 <sup>a</sup>	0,073* <sup>u</sup>
% intake towards needs	15 (13-17) <sup>b</sup>	15 (12 - 17) <sup>b</sup>	0,866* <sup>mw</sup>
Fat intake (g)	88,39± 11,80 <sup>a</sup>	95,34± 15,04 <sup>a</sup>	0,129* <sup>u</sup>
% intake towards needs	37,37± 5,02 <sup>a</sup>	39,50± 5,45 <sup>a</sup>	0,225* <sup>u</sup>
Carbohydrate intake (g)	247,23± 37,65 <sup>a</sup>	239,06± 33,98 <sup>a</sup>	0,492* <sup>u</sup>
% intake towards needs	47 (39-57) <sup>b</sup>	44 (36-55) <sup>b</sup>	0,475* <sup>u</sup>
Vitamin C intake (mg)	12,67± 1,27 <sup>a</sup>	13,02± 1,17 <sup>a</sup>	0,39* <sup>u</sup>
Vitamin E intake (mg)	5,7 (4,1-7) <sup>b</sup>	5,3 (4,1-6,8) <sup>b</sup>	0,644* <sup>mw</sup>
Pre-intervention plasma MDA (nmol/mL)	1,39± 0,19 <sup>a</sup>	1,34± 0,09 <sup>a</sup>	0,342* <sup>u</sup>

<sup>n</sup> = n (%), \* = not significant, \*\* = significant

<sup>u</sup> = unpaired t test, <sup>mw</sup> = Mann Whitney test; <sup>a</sup> = mean ± SD, <sup>b</sup> = median (minimum-maximum)

IMT before and after intervention in both groups showed no significant differences ( $p > 0,05$ ). In statistics, IMT on H-8 and H29 also showed no significant differences ( $p > 0,05$ ).

Table 2. Nutritional status based on body mass index H-8 and H 29 during intervention in intervention and control group.

Variable	Intervention group (n=19)	Control group (n=18)	p <sup>^</sup>
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )			
H-8	20,43± 0,83	20,13± 1,09	0,346*
H 29	20,43±0,84	20,13± 1,03	0,344*
p#	0,497*	0,963*	

p<sup>^</sup> : unpaired t test H 29 between intervention and control group

p# : paired t test H-8 and H29 between intervention and control group

p = significant ( $p < 0,05$ ), \* = not significant, \*\* = significant

During intervention, intake percentage energy, proteins, and carbohydrate intake were adequate in both groups. The percentage intake of fat in both groups were tends to be excess. Before and after intervention, vitamin C and E in those two groups were tends to be inadequate.

Table 3. Energy, protein, fat, carbohydrates, vitamin C and E intakes during intervention in intervention and control group.

Variable	Intervention group (n=19)		Control group (n=18)		P
	pre	post	Pre	post	
KET (kcal/day)	1937,10 (1693,90-2128,49) <sup>b</sup>	1926,42 (1693,9-2128,49) <sup>b</sup>	1867,79 (1715,74-2005,90) <sup>b</sup>	1869,57 (1715,74-1988,09) <sup>b</sup>	0,33 <sup>*mw</sup>
Energy intake (kcal)	2064,87± 172,31	2048,25±112,97	2089,71± 146,31	2073± 118,13	0,52 <sup>**</sup>
%intake towards KET	107,40 ± 7,29 <sup>a</sup>	106,86±7,12 <sup>a</sup>	110,78± 5,40 <sup>a</sup>	110±5,99 <sup>a</sup>	0,15 <sup>**</sup>
Protein intake (g)	76,82± 9,20 <sup>a</sup>	70,48± 6,38 <sup>a</sup>	77,79± 7,86 <sup>a</sup>	68,91± 4,95 <sup>a</sup>	0,41 <sup>**</sup>
%intake towards needs	15 (13-17) <sup>b</sup>	14 (12-16) <sup>b</sup>	15 (12 - 17) <sup>b</sup>	13 (12- 15) <sup>b</sup>	0,18 <sup>*mw</sup>
Fat intake (g)	88,39± 11,80 <sup>a</sup>	76,08± 10,81 <sup>a</sup>	95,34± 15,04 <sup>a</sup>	81,69± 14,88 <sup>a</sup>	0,20 <sup>**</sup>
% intake towards needs	37,37± 5,02 <sup>a</sup>	32,16± 4,51 <sup>a</sup>	39,50± 5,45 <sup>a</sup>	34,22± 5,68 <sup>a</sup>	0,23 <sup>**</sup>
Carbohydrate intake (g)	241,3 (173,60-313,20) <sup>b</sup>	281,1 (202,6-325,9) <sup>b</sup>	237,2 (173,60- 309,2) <sup>b</sup>	279,15 (202,6- 311,7) <sup>b</sup>	0,54 <sup>*mw</sup>
%intake towards needs	47 (39-57) <sup>b</sup>	53 (45-53) <sup>b</sup>	44 (36-55) <sup>b</sup>	52,5(42-61) <sup>b</sup>	0,48 <sup>*mw</sup>
Vitamin C intake (mg)	12,67± 1,27 <sup>a</sup>	12,07± 1,28 <sup>a</sup>	13,02± 1,17 <sup>a</sup>	12,38± 1,35 <sup>a</sup>	0,48 <sup>**</sup>
%intake towards needs	14,08±1,41 <sup>a</sup>	13,41± 1,42 <sup>a</sup>	14,47± 1,29 <sup>a</sup>	13,75±1,49 <sup>a</sup>	0,48 <sup>**</sup>
Vitamin E intake (mg)	5,7 (4,1-7) <sup>b</sup>	5,5 (4,6-6,4) <sup>b</sup>	5,3 (4,1-6,8) <sup>b</sup>	5,6 (4,6-7,6) <sup>b</sup>	0,94 <sup>*mw</sup>
%intake towards needs	38,1±6,34 <sup>a</sup>	37,61±3,74 <sup>a</sup>	36,37±5,49 <sup>a</sup>	38 ±6,1 <sup>a</sup>	0,79 <sup>**</sup>

\* = not significant, \*\* = significant, <sup>a</sup> = unpaired t test, <sup>mw</sup> = Mann Whitney test;

<sup>a</sup> = mean ± SD, <sup>b</sup> = median (minimum-maximum)

Initial, plasma MDA in the intervention and control group were  $1,39 \pm 0,19$  nmol/mL and  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL. There were no significant differences. After 4 weeks intervention, the average MDA plasma were  $1,18 \pm 0,22$  nmol/mL in the intervention and  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL in control group,  $p < 0,037$ , which is significant. (Table 4.)

Table 4. Mean and statistic test of MDA plasma level of subjects in the intervention and control group.

Variable	Intervention (n=19)	Placbo (n=18)	P
MDA plasma (nmol/mL)			
Pre-intervention	$1,39 \pm 0,19$	$1,34 \pm 0,09$	0,342** <sup>u</sup>
Post-intervention	$1,18 \pm 0,22$	$1,31 \pm 0,13$	<0,037** <sup>u</sup>

\* = not significant, \*\* = significant, <sup>u</sup> = unpaired t test, <sup>mw</sup> = Mann Whitney test;

## DISCUSSION

This research has limits in not examining the vitamin C and E plasma levels. Both examinations may be required to evaluate if vitamin C and E administration are followed by its increasing level in plasma. Nutrition intake evaluation with *food record* in this study doesn't followed by weighing food substances. This was because the field situation is impossible to accomplish this weighing. So the evaluation of intake has done by counting food quantities which has been provided detracted with remaining food observed.

Variables which may be confounding factors in this research were hypertension, hypercholesterolemia, diabetes mellitus, history og antioxidant supplementation during intervention. So those variables limited by research criteria. Other factors which may be considered as confounding, were cumulative of risk factors, nutritional state, and nutritional intake (consists of energy, protein, fat, carbohydrate and antioxidant) during intervention. But after statistical analyzes, there were no significant differences between two groups regarding on those factors. So then we might say the two groups were similar and the results which obtained were purely because of the intervention.

Subjects has median age 26 (23-35) years old in the intervention group and 31,5 (20-35) years old in control group. This median of age was closed to Marangon<sup>7</sup> and Lykkesfeldt<sup>8</sup>, average aged of smokers were between 22-35 years old. RISKESDAS 2007<sup>9</sup>, where as the prevalency of smokers around 15-54 years old. All of the subjects were male. This could he related by smoking habits which has the most prominent in male. Blood pressure, blood glucose and total cholesterol were normal.

Based on intakes of energy, protein, fat, carbohydrate percentage towards needs, we conclude energy, protein, carbohydrate intake was adequate, and fat was excessive in both intervention and control group. This results closed to Bloomer<sup>10</sup> that reported the smokers have adequate intake of energy, protein, carbohydrate, and high fat intake. In both groups vitamin C and E consumption were below the recommended intake. This mean of vitamin C consumption was lower than previous reports Bloomer<sup>10</sup>, vitamin C intake was  $37 \pm 20$  mg/day and vitamin E  $4 \pm 2$  mg/day. In RISKESDAS 2007, 94,5 % Indonesian citizen have a low dietary intake of fruit and vegetables, and it has been associated with an

increased risk of developing chronic diseases such as cancer and atherosclerosis.<sup>9,11,12</sup>

Initial, plasma MDA in the intervention and control group were  $1,39 \pm 0,19$  nmol/mL and  $1,34 \pm 0,09$  nmol/mL. There were no significant differences. After intervention, the average MDA plasma were  $1,18 \pm 0,22$  nmol/mL in the intervention and  $1,31 \pm 0,13$  nmol/mL in control group,  $p < 0,037$ , which is significant. Lykkesfeldt<sup>13</sup> showed comparison of MDA plasma between smokers and non smokers are  $0,82 \pm 0,18$   $\mu$ mol/L and  $1,06 \pm 0,35$   $\mu$ mol/L. This comparison shows that smokers have higher oxidative stress level than non smokers ( $p = 0,0003$ ).

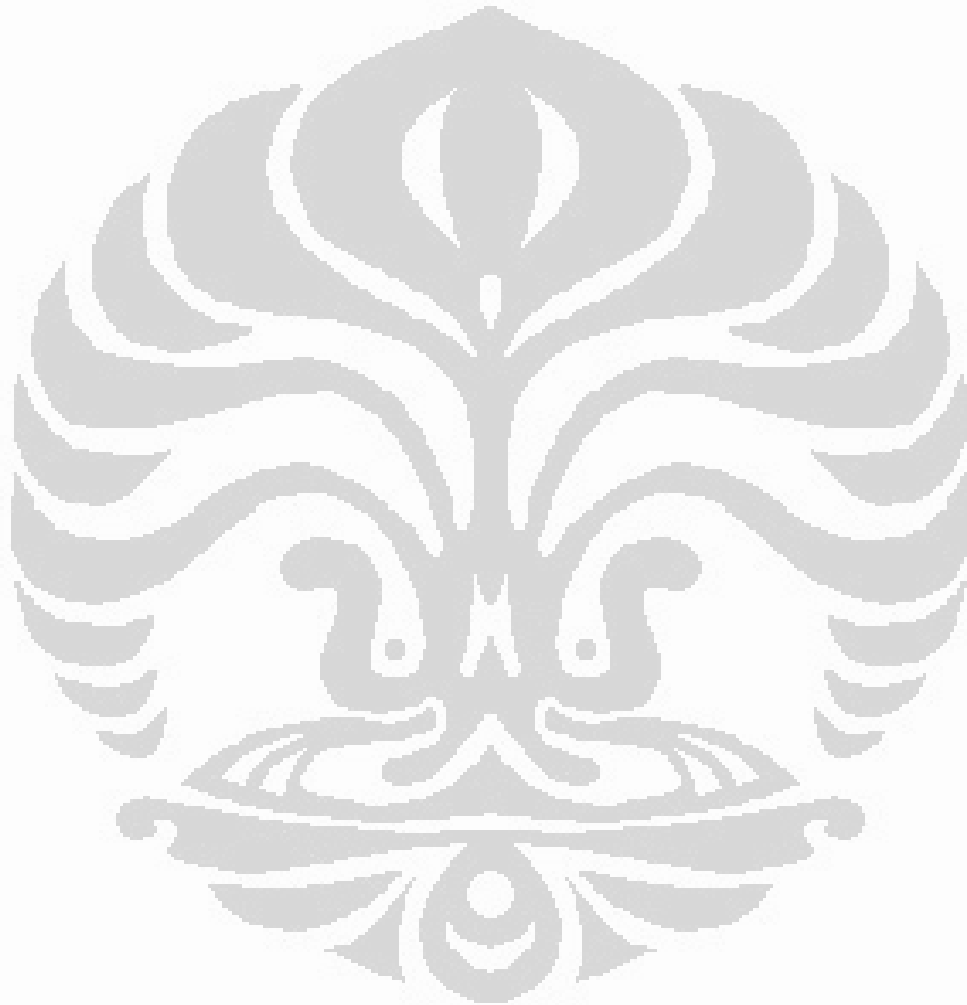
There were no previous MDA plasma level data in clove cigarettes smokers in Indonesia. MDA plasma was marker of lipid peroxidase which may describe oxidative stress level in smokers.<sup>7</sup> This study evidenced of vitamin C and E administration was significantly causing decrease of lipid peroxidation which marked by MDA plasma level. Puchaiwatananon<sup>14</sup> showed combination vitamin C 500 mg and E 500 mg during four weeks can decrease MDA significantly from  $1,42 \pm 0,09$   $\mu$ mol/L to  $0,91 \pm 0,05$   $\mu$ mol/L. Hyun<sup>15</sup> reported that combination of vitamin C 500 mg and E 400 IU in smokers gives better results, than supplementation either vitamin C or vitamin E alone. The supplementation of vitamin C and E might decrease the oxidative stress and various risk factors of smoking related diseases.

As conclusions, combination of vitamin C 500 mg and vitamin E 400 IU compared with placebo on plasma malondialdehyde in clove cigarettes smokers during 4 weeks showed significant differences averages of plasma malondialdehyde. So, smokers are advised to consume supplementation of vitamin C 500 mg and vitamin E 400 IU, in order to decrease the oxidative stress and risk of cardiovascular disease.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. Edisi ke 4. New York: Oxford University Press. 2007. Hal. 301-301
2. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57:715s-725s.
3. Parke DV, Ionnide C, Walker R, editor. Food nutrition and toxicity. London Whitstable; Litho Printer 1993.
4. Tejinder G, Anita K, Simmerpreet. Effect of Supplementation of Vitamin C Antioxidant on the Nutritional Profile of Male Smokers. *J Hum Ecol* 2005;18(3):239-243.
5. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. Edisi ke 4. New York: Oxford University Press. 2007. Hal. 301.
6. Skeaff M. Vitamin C dan E. Dalam : Mann J, Truswell AS, editor. Essentials of human nutrition. Edisi ke 2. New York: Oxford University Press Inc, 2005. Hal. 231-47.
7. Marangon K, Herbeth B, Lee Comte. Diet, antioxidant status, and smoking habits in French man. *Am J Clin Nutr* 1998;50:115-20.
8. Lykkesfeldt J, Christen S, Wallock LM, Chang HH, Jacob RA, Ames BN. Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000;71(2):530-536
9. Departemen Kesehatan RI. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Nasional 2007. Jakarta: Depkes, 2008.
10. Bloomer RJ. Decreased blood antioxidant capacity and increased lipid peroxidation in young cigarette smokers compared to non smokers : Impact of dietary intake. *Nutrition Journal* 2007;6-39.
11. La Vecchia C, Tavani A. Fruit and vegetables, and human cancer. *Eur J Cancer Prev* 1998;7:3-8
12. Hininger I, Chopra M, Thurnham DI, et al. Effect of increased fruit and vegetable intake on the susceptibility of lipoprotein to oxidation in smokers. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:601-6.
13. Lykkesfeldt J, Viscovich M, Poulsen HE. Plasma malondialdehyde is induced by smoking: a study with balanced antioxidant profiles. *British Journal of Nutrition* 2004;92:203-206.

14. Puchaiwatananon OD, Jeampiriyakul N, Nopchinda S, Komindr. Effects of Vitamin C and E Supplementation on Lipid Peroxidation in Smokers. *Rama Med J* 2004; 27:7-12.
15. Hyun AK, Hye SM, Ae WHA, Hwa JI, Hong ML, Man SR, Kyung HS. Effects of Vitamin C and Vitamin E Supplementation on Anti-oxidative System of the Smokers and Non smokers. *J Community Nutrition*. 2004;6(3): 146-154.





# UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax. : 31930372, 3157288, e-mail : office@fk.ui.ac.id

NOMOR : 206 /PT02.FK/ETIK/2010

## KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

### ETHICAL — CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

*The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:*

**"Pengaruh Suplementasi Vitamin C dan E Terhadap Kadar Malondialdehida Plasma Pada Perokok Kretek Filter".**

**Peneliti Utama** : dr. Emilia Slamet  
*Name of the Principal Investigator.*

**Nama Institusi** : Ilmu Gizi FKUI/RSCM

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.  
*and approved the above mentioned proposal.*

Jakarta, 17 Mei 2010



Chairman  
Ketua

Ppt. Prof. Agus Firmansyah, SpA(K)

**-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan  
identitas subyek penelitian.**



## Lampiran 2

Formulir A

kode subyek : .....

### Formulir Seleksi

Nama : No.telepon :  
Tgl.lahir : Alamat :

Kriteria penerimaan	Ya	Tidak
1. Usia 20-35 tahun		
2. IMT 18,5-22,9 kg/m <sup>2</sup>		
3. Merokok <600 batang/tahun		
4. Jenis rokok yang dikonsumsi adalah kretek filter		
5. Bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani formulir persetujuan		
<b>Kriteria penolakan</b>		
1. Mengonsumsi obat yang mempengaruhi metabolisme lipid		
2. Menderita penyakit darah tinggi yang ditentukan dengan anamnesis dan pemeriksaan tekanan darah >140/90 mmhg;		
3. Memiliki kadar GDP $\geq$ 126 mg/ dL		
4. Memiliki kadar kolesterol total $\geq$ 240 mg/ dL		
<b>Kesimpulan : terpilih / tidak terpilih sebagai subyek penelitian</b>		

### Lembar Informasi Penelitian

Yth. Bapak/Saudara

Dengan ini kami jelaskan bahwa akan diadakan penelitian pada Bapak/Saudara untuk mengetahui pengaruh pemberian suplementasi oral vitamin C dan E terhadap radikal bebas pada perokok kretek filter. Apabila Bapak/ Saudara bersedia mengikuti penelitian ini. Maka akan dilakukan :

1. Wawancara mengenai usia, dan riwayat penyakit yang pernah dan sedang diderita oleh subyek penelitian.
2. Pencatatan jenis dan jumlah makanan serta minuman yang terakhir dikonsumsi selama dua hari berturut-turut (satu hari kerja dan satu hari libur) pada awal dan akhir perlakuan.
3. Pengukuran tinggi badan dan berat badan pada awal dan akhir penelitian.
4. Diberikan kapsul vitamin C dan E masing-masing diminum sebutir sehari selama empat minggu
5. Pengambilan darah sebanyak  $\pm 5$  ml atau satu sendok teh untuk mengetahui kadar MDA yang merupakan salah satu petunjuk jumlah radikal bebas pada satu hari sebelum penelitian dan akhir penelitian.

Akibat pengambilan darah, mungkin Bapak/Saudara akan merasakan sedikit ketidaknyamanan atau sakit, namun hal ini akan diminimalkan dengan pengambilan darah oleh tenaga terlatih dan menggunakan jarum suntik yang kecil.

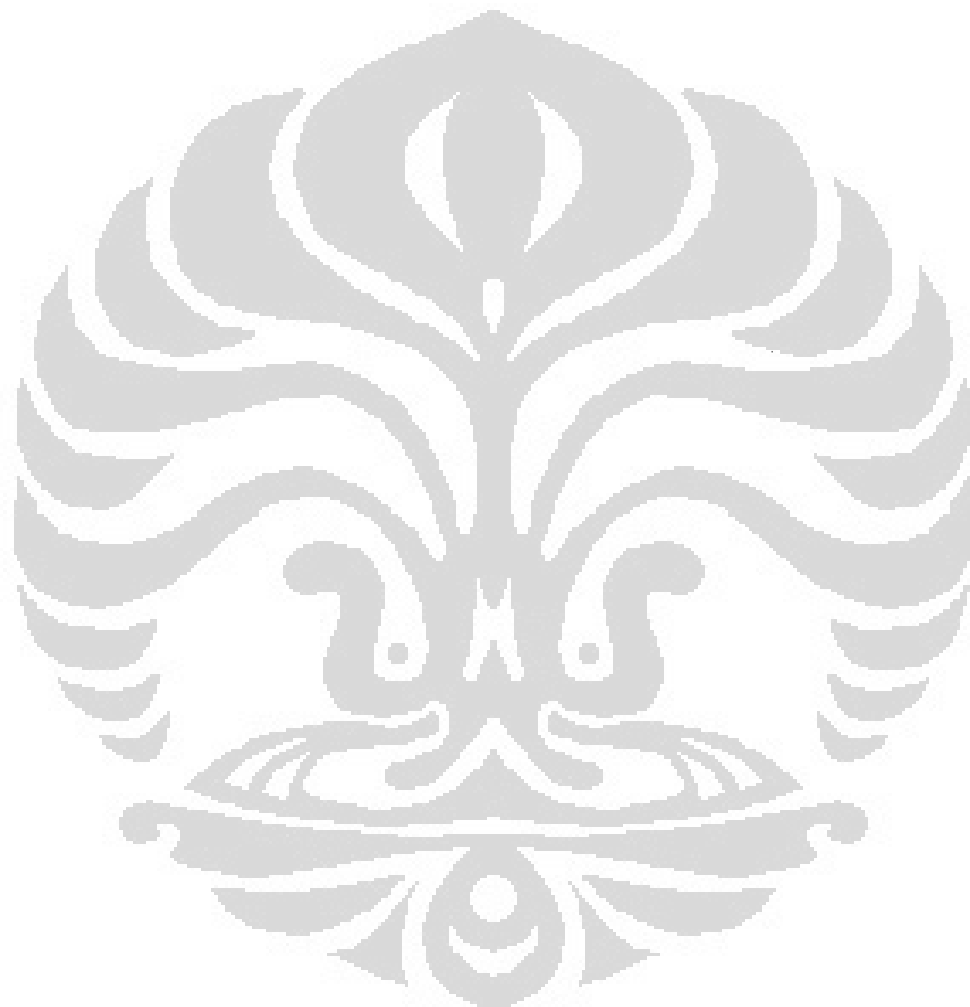
Keuntungan bagi Bapak/Saudara apabila mengikuti penelitian ini adalah dapat mengetahui status gizi, kadar malondialdehida dalam tubuh dan pengaruh pemberian vitamin C dan E terhadap radikal bebas.

Keikutsertaan Bapak/Saudara dalam penelitian ini bersifat sukarela dan Bapak/Saudara dapat menolak atau mengundurkan diri selama proses penelitian berlangsung. Semua data dalam penelitian ini bersifat rahasia

Apabila Bapak/Saudara bersedia ikut dalam penelitian ini, maka kami akan memohon kesediaanya untuk dapat menandatangani surat persetujuan menjadi peserta penelitian:

**PENGARUH SUPLEMENTASI ORAL VITAMIN C DAN E TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA PLASMA PEROKOK KRETEK FILTER DI JAKARTA**

Hal-hal yang belum jelas dalam penelitian ini dapat ditanyakan secara langsung atau melalui telepon pada penanggung jawab penelitian yaitu dr. Emilia. Slamet (0818 799 348).  
Atas kesediaan Bapak/Saudara, kami ucapkan terima kasih.



**LEMBAR PERSETUJUAN**

*(Informed Consent)*

---

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI KLINIK  
PROGRAM PENDIDIKAN PASCASARJANA  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA**

---

**SURAT PERSETUJUAN MENJADI PESERTA PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama lengkap :

Usia :

Alamat lengkap :

Setelah mendengar dan membaca penjelasan mengenai tujuan dan manfaat penelitian tersebut dengan judul

**PENGARUH SUPLEMENTASI ORAL VITAMIN C DAN E TERHADAP KADAR  
MALONDIALDEHIDA PLASMA PADA PEROKOK KRETEK FILTER DI JAKARTA**

Menyatakan dengan sukarela menyetujui diikutsertakan dalam penelitian tersebut dengan catatan bila sewaktu-waktu dirugikan dalam bentuk apapun berhak membatalkan persetujuan ini.

Jakarta, ..... 2010

Mengetahui  
Penanggung jawab

Menyetujui  
Peserta penelitian

(dr. Emilia. Slamet)

(.....)

Saksi

(.....)

Formulir C

**IDENTITAS SUBYEK**

Tanggal pemeriksaan :

No. Kode Subyek :

**BIODATA**

1. Nama lengkap :
2. Tempat tanggal lahir :
3. Usia :
4. Berat badan :
5. Tinggi badan :
6. Alamat lengkap :
7. No. telepon :
8. Kebiasaan merokok sejak umur :
9. Rokok yang dikonsumsi : (merk)
10. Jumlah rokok yang dikonsumsi per hari : (batang)
11. Apakah saudara mengkonsumsi suplemen vitamin C dan E : (ya/ tidak)
12. Jika iya, sudah berapa lama meminumnya : (berapa kali dalam seminggu)

**Pemeriksaan :**

1. Tekanan darah :
2. Kolesterol total :
3. Gula Darah Puasa :



**Lampiran 4**

**Formulir E**

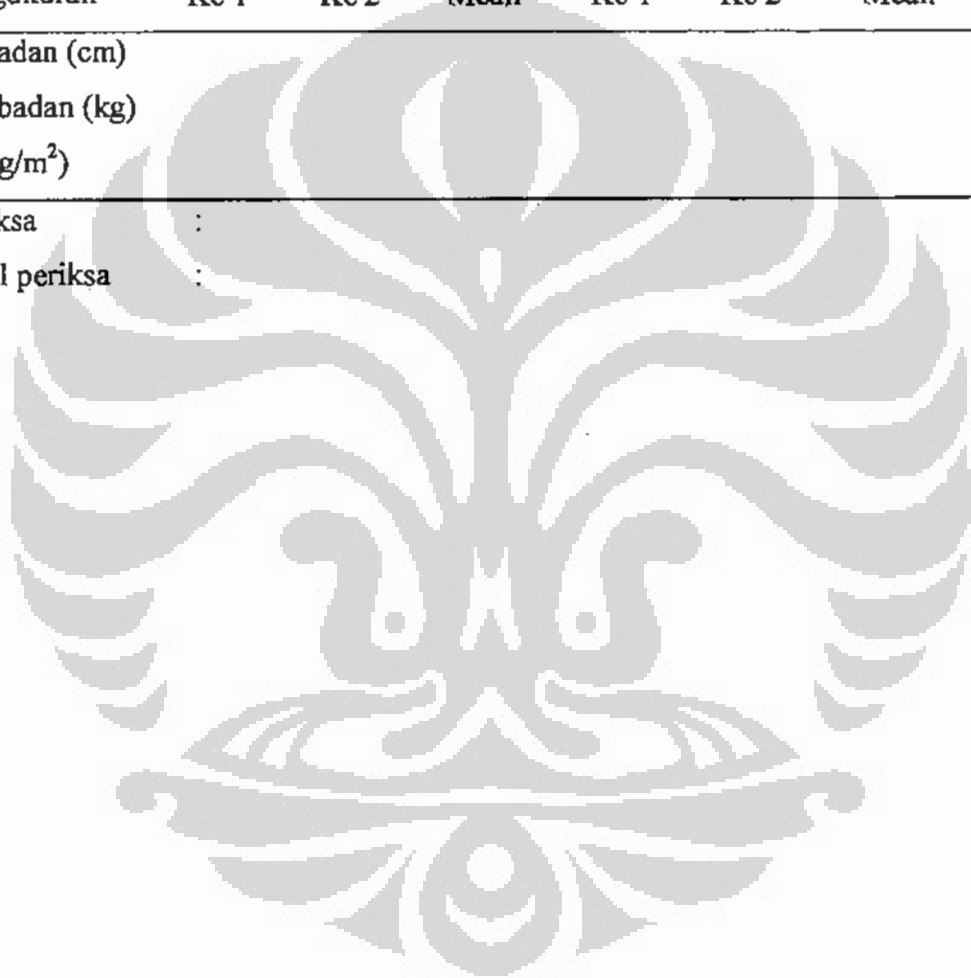
**PEMERIKSAAN ANTROPOMETRI**

Nama :

Usia :

Kode subyek :

Pengukuran	H-8			H29		
	Ke 1	Ke 2	Mean	Ke 1	Ke 2	Mean
Berat badan (cm)						
Tinggi badan (kg)						
IMT (kg/m <sup>2</sup> )						
Pemeriksa :						
Tanggal periksa :						



**Lampiran 5**

**Formulir F**

**HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM**

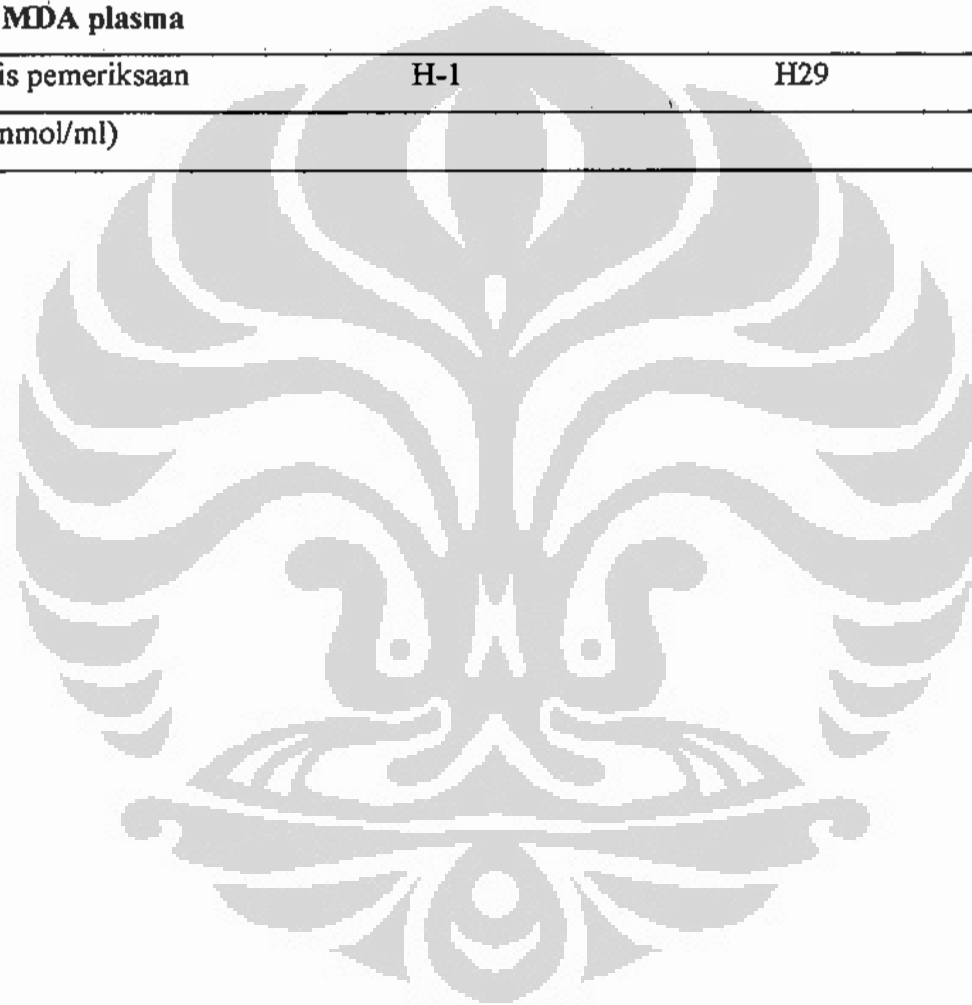
Nama :

Usia :

Kode subyek :

**Kadar MDA plasma**

Jenis pemeriksaan	H-1	H29
MDA (nmol/ml)		





## Lampiran 6

### Formulir G

#### DATA KEPATUHAN

Nama :

Usia :

Kode subyek :

Minggu	Tablet 1			Tablet 2		
	Diberikan	Sisa	Dikonsumsi	Diberikan	Sisa	Dikonsumsi
1						
2						
3						
4						

## Lampiran 7

### Malondialdehida

**BIOXYTECH**® MDA-586™

Metode : Spektrofotometri MDA-586

#### Prinsip:

Metode MDA-586 didasarkan pada reaksi reagen N-metil-2-phenylindole (R1, NMPI), dengan MDA pada temperatur 45°C. Satu molekul MDA bereaksi dengan 2 molekul NMPI untuk menghasilkan pewarna carbocyanine stabil.

#### Reagen dan alat:

- Pereaksi R1 [N-metil-2-phenylindole, dalam asetonitril]
- Pereaksi R2 [Konsentrat] asam klorida
- BHT [(hydroxytoluene butylated) dalam asetonitril]
- MDA Standar [1.1.3.3-tetramethoxypropane (TMOP) dalam Tris-HCl]
- Probucol dalam metanol
- Methanol
- Spektrofotometer
- Spektrofotometri cuvettes dengan panjang lintasan 1 cm optik (kaca, kuarsa, atau polistiren)
- *Water bath* atau set panas blok untuk mengontrol suhu di  $45 \pm 1^\circ\text{C}$
- Tabung sekali pakai dan sumbat (kaca atau polypropylene)
- Microcentrifuge

#### Prosedur:

##### Persiapan reagen

*Pengenceran larutan R1 untuk digunakan dalam uji tersebut.* Tambahkan satu volume (6 mL) metanol 100% untuk tiga volume (18 mL) reagen R1.

##### TMOP (MDA) Standar

Suatu set MDA Standar disediakan sebagai tetramethoxypropane (TMOP) karena MDA tidak stabil. TMOP adalah hidrolisat selama langkah asam inkubasi pada 45°C, yang akan menghasilkan MDA.

#### Cara Kerja

1. Tambahkan 10 mL probucol untuk setiap tabung uji.
2. Tambahkan 200  $\mu\text{L}$  sampel atau standar untuk masing-masing tabung uji.
3. Tambahkan 640  $\mu\text{L}$  dari reagen R1 terdilusi menjadi masing-masing tabung.
4. Masing-masing tabung campur dengan vortex.
5. Tambahkan 150  $\mu\text{L}$  R2.
6. Sumbat masing-masing tabung dan campur dengan baik dengan vortex.
7. Inkubasi pada temperature 45°C selama 60 menit.
8. Sentrifugasi sampel keruh (misalnya, 10.000 g X selama 10 menit) untuk mendapatkan supernatan yang jernih.
9. Pindah supernatan yang jelas ke dalam cuvette.
10. Ukur absorbansi pada 586 nm.

**Perhitungan:**

1. Menggunakan data standar, melakukan regresi linier A586 pada [MDA]:

$$A_{586} = a[\text{MDA}] + b$$

2. Hitung konsentrasi analit dalam sampel:

$$[\text{MDA}] = \frac{A_{586} - b}{a} \cdot df$$

[MDA] = Konsentrasi MDA dalam sampel

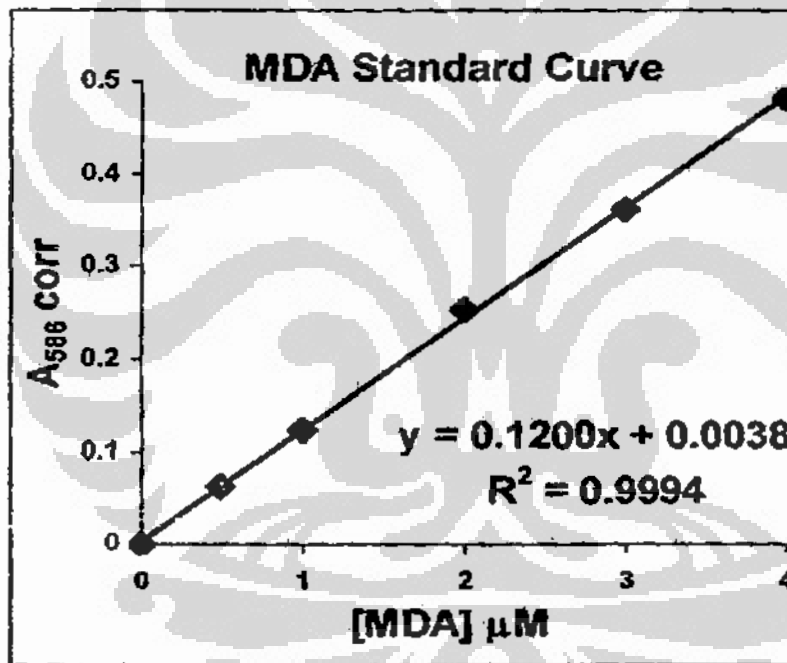
$A_{586}$  = Absorbansi pada 586 nm sampel

a = koefisien regresi (kemiringan)

b = Intercept [penangkap/ penahan]

df = Contoh faktor pengenceran

Contoh kurva standar



**Lampiran 8**

**PROSEDUR RANDOMISASI BLOK**

Kelompok perlakuan : A  
 Kelompok kontrol : B  
 Besar blok : 4

1. Jumlah kemungkinan kombinasi daftar blok

$$\frac{4!}{(4/2!) (4/2!)} = \frac{4 \times 3 \times 2 \times 1}{(2 \times 1) (2 \times 1)} = 6$$

AABB	00-16	BBAA	51-67
ABAB	17-33	BABA	68-84
ABBA	34-50	BAAB	85-99

2. Dengan mata tertutup secara acak ditunjuk satu titik pada tabel angka random.
3. Didapatkan angka 38 sebagai nomor pertama, kemudian dicatat nomor bilangan mulai dari tempat yang ditunjuk diteruskan ke bilangan berikut di bagian bawahnya.
4. Diperlukan 10 blok untuk keperluan 40 orang.
5. Kemudian ganti nomor bilangan tersebut sesuai letak nomor tersebut di dalam kombinasi daftar blok seperti di bawah ini.

(38)	(59)	(25)	(33)	(32)
ABBA	BBAA	ABAB	ABAB	ABAB
(10)	(36)	(82)	(55)	(36)
AABB	ABBA	BABA	BBAA	ABBA

6. Nama subyek penelitian dimasukkan ke dalam amplop yang telah diberi nomor, kemudian disusun sekuens tersebut sesuai dengan nomor amplop. Selanjutnya ditentukan kelompok masing-masing dengan membuka amplop.

No. Amplop		No. Amplop		No. Amplop	
1.	A	16.	B	31.	B
2.	B	17.	A	32.	A
3.	B	18.	B	33.	B
4.	A	19.	A	34.	B
5.	B	20.	B	35.	A
6.	B	21.	A	36.	A
7.	A	22.	A	37.	A
8.	A	23.	B	38.	B
9.	A	24.	B	39.	B
10.	B	25.	A	40.	A
11.	A	26.	B		
12.	B	27.	B		
13.	A	28.	A		
14.	B	29.	B		
15.	A	30.	A		

## TABEL DUMMY

## 1. Karakteristik Subyek Penelitian

**Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian menurut usia, kebiasaan merokok, indeks Brinkman, tekanan darah, kadar glukosa puasa, kadar kolesterol total, indeks massa tubuh (IMT)**

Variabel	Kelompok perlakuan (Vitamin C+E)	Kelompok kontrol (Plasebo)	p
Usia (tahun)			
Kebiasaan merokok (batang/hari)			
Indeks Brinkman			
Tekanan darah (mmHg)			
Glukosa puasa (mg/dL)			
Kolesterol total (md/dL)			
IMT (kg/m <sup>2</sup> )			

p : uji statistik IMT antara H-8 dan H29 masa perlakuan

## 2. Asupan zat gizi

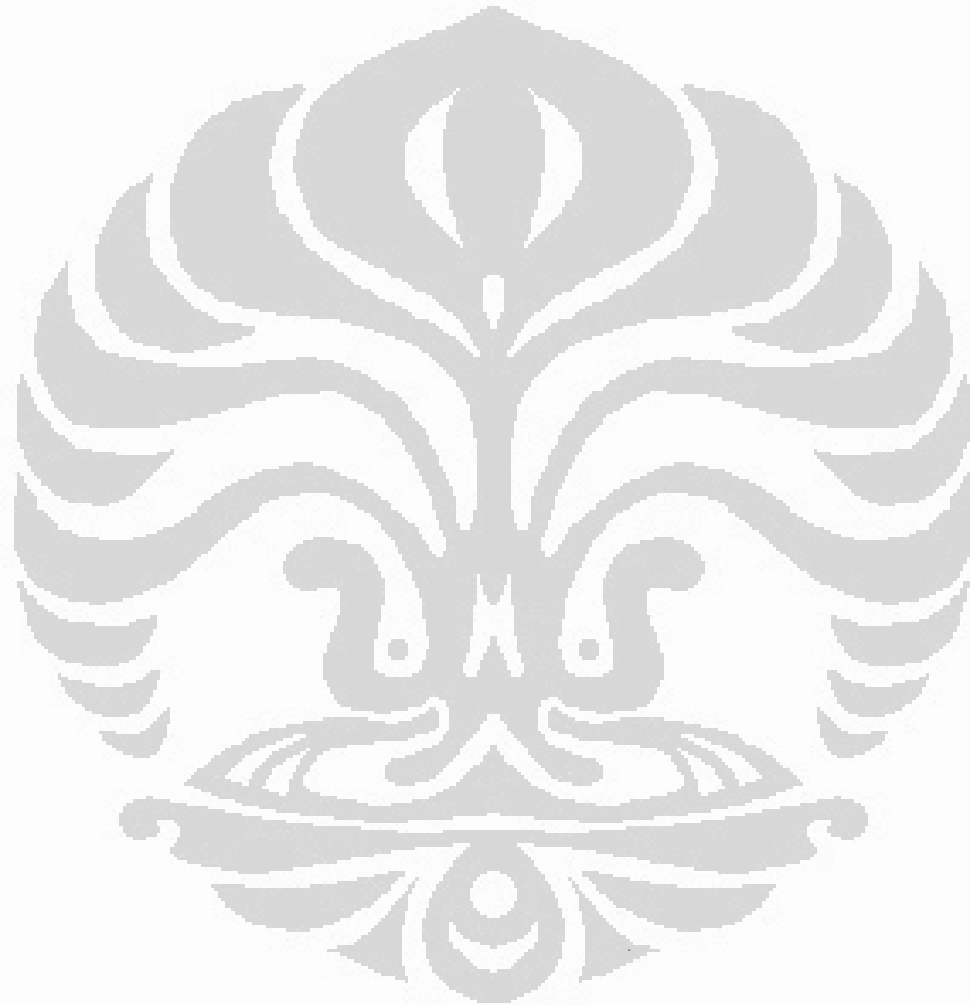
**Tabel 2. Rerata asupan zat gizi subyek penelitian**

Variabel	Kelompok perlakuan (Vitamin C+E)		Kelompok kontrol (Plasebo)		p
	Awal	Akhir	Awal	Akhir	
Energi (kalori, %)					
Kurang					
Cukup					
Lebih					
Karbohidrat (g, %)					
Kurang					
Cukup					
Lebih					
Protein (g, %)					
Kurang					
Cukup					
Lebih					
Lemak (g, %)					
Kurang					
Cukup					
Lebih					
Vitamin C (mg, %)					
Kurang					
Cukup					
Vitamin E (mg, %)					
Kurang					
Cukup					

### 3. Parameter penelitian

**Tabel 3. Kadar MDA plasma**

Kadar MDA (nmol/ml)	Kelompok perlakuan (Vitamin C+E)	Kelompok kontrol (Plasebo)	p
Awal			
Akhir			



## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : dr. Emilia Slamet  
Tempat/tanggal lahir : Jakarta/ 27 September 1982  
Agama : Kristen Protestan  
Status : Menikah  
Nama Suami : Nico GS  
Riwayat Pendidikan : Lulus Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti,  
Tahun 2007  
Riwayat Pekerjaan :  
Tahun 2007- sekarang: Dokter umum praktek pribadi

