

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Folikulogenesis

Folikulogenesis adalah proses pematangan folikel pada korteks ovarium yang tersusun dari sel somatik padat dan mengandung oosit imatur. Proses ini menggambarkan perubahan dari folikel primordial kecil menjadi folikel preovulasi besar. Ovarium sejak wanita dilahirkan memiliki sejumlah folikel primordial imatur yang mengandung oosit primer yang juga imatur. Folikel primordial mengalami perubahan karakter histologis dan fisiologis dimana akan terbentuk baik folikel tersier maupun folikel antral. Proses ini bergantung pada berbagai jenis hormon yang menyebabkan kecepatan folikulogenesis dan oogenesis yang berakhir dengan adanya ovulasi atau sebaliknya atresia pada folikel (Speroff, *et al.* 2011).

GnRH yang diproduksi dan dilepaskan secara pulsatil dalam jumlah tertentu oleh hipotalamus akan mempengaruhi hipofise. Sel hipofise pars anterior memproduksi FSH yang berperan penting dalam proses folikulogenesis. Folikulogenesis ini ditandai oleh peningkatan diameter folikel dan berakhir pada folikel pre-ovulasi. Kerjasama antara FSH dan lutenizing hormone (LH) mengakibatkan terjadinya ovulasi yang menghasilkan oosit matur (Speroff, *et al.* 2011).

Perkembangan sel folikuler dan oosit terdiri dari lima tahap, yaitu : tahap folikel primer, folikel sekunder, folikel tertier, folikel antral dan folikel *de Graaf* (Speroff, *et al.* 2011).

2.1.1 Folikel primer

Perkembangan folikel primer merupakan stadium pertama pertumbuhan folikel. Oosit mulai tumbuh, terbentuk zona pellusida yang secara penuh mengelilingi oosit. Zona pellusida tersebut disintesis oleh oosit dan sel granulosa yang terletak di antara oosit dan lapisan sel granulosa. Sel-sel granulosa pada akhir stadium mengalami perubahan morfologi dari skuamosa menjadi kuboidal. Oosit primer yang dikelilingi oleh selapis sel folikuler disebut unilaminar folikel primer, sedangkan bila lebih dari satu lapis disebut multilaminar folikel primer.

2.1.2 Folikel sekunder

Oosit yang mencapai pertumbuhan maksimal (diameter 120 μm) proliferasi sel-sel granulosa dan terbentuknya sel-sel teka merupakan perubahan ke arah folikel sekunder. Folikel memperoleh suplai darah tersendiri setelah sel teka terbentuk meskipun lapisan sel granulosa tetap avaskuler. Sel-sel granulosa membentuk reseptor-reseptor *follicle stimulating hormone (FSH)*, estrogen dan androgen.

2.1.3 Folikel tertier

Folikel tertier atau *early antral phase* ditandai dengan pembentukan sebuah antrum atau rongga dalam folikel. Cairan antrum mengandung steroid, protein, elektrolit dan proteoglycans. Sel-sel granulosa mulai berdiferensiasi membentuk membran periantral, cumulus oophorus, dan lapisan corona radiata yang dipengaruhi

oleh hormon FSH. Sel granulosa menghasilkan aktivin dan meningkatkan ekspresi P450 aromatase karena stimulasi FSH. Fungsi aktivin adalah meningkatkan ekspresi gen reseptor FSH di sel granulosa dan mempercepat folikulogenesis. Sel granulosa juga menghasilkan inhibin yang terlibat dalam lengkung umpan balik negatif yang dapat menghambat hipofise dalam menghasilkan FSH. Pertumbuhan folikel selama fase ini karena mitosis sel granulosa akibat stimulasi FSH, bila tidak terdapat FSH, folikel akan mengalami atresia.

Sel-sel teka interstisial terbentuk di dalam sel teka interna. FSH dan estrogen mempengaruhi sel-sel teka interstisial mendapatkan reseptor *luteinizing hormone* (LH). Sel teka interstisial meningkatkan jumlah reseptor LH dan memperkuat aktivitas enzim StAR, 3β *hidroxyteroid dehydrogenase* (3β HSD) dan P450c17 untuk segera meningkatkan produksi androgen dalam bentuk androstenedion dan testosterone. Androgen berdifusi melewati lamina basalis folikel menuju sel granulosa. Androgen terutama androstenedion yang dipengaruhi oleh FSH mengalami proses aromatisasi dengan bantuan enzim P450 aromatase menjadi estrogen. Estrogen yang dihasilkan bekerja pada folikel untuk meningkatkan jumlah reseptor FSH di sel granulosa sehingga sel tersebut mengalami proliferasi, hal ini penting dalam seleksi folikel dominan, untuk menghasilkan lonjakan LH.

2.1.4 Folikel antral

Fase pertumbuhan antrum ditandai oleh pertumbuhan cepat dari folikel dan bersifat sangat tergantung pada gonadotropin. Sel teka interna yang dipengaruhi oleh FSH terus berdiferensiasi menjadi sel teka interstisial yang menghasilkan

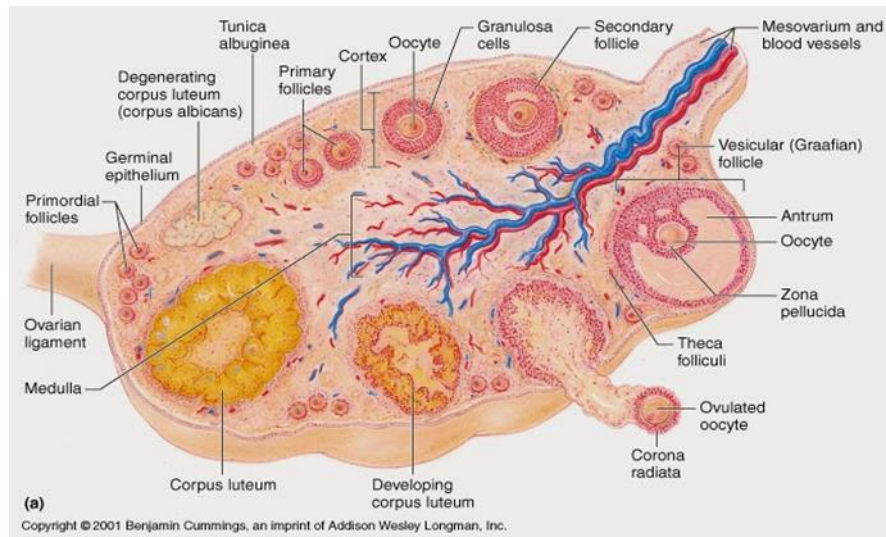
androstenedion lebih banyak sehingga estrogen yang dihasilkan juga bertambah banyak. Estrogen yang meningkat menyebabkan aktivitas FSH dalam folikel diperkuat, memberi umpan balik negatif ke hipofise untuk menghambat sekresi FSH serta memfasilitasi pengaruh FSH dalam membentuk reseptor LH di sel granulosa. Puncak FSH merangsang munculnya reseptor LH yang adekuat di sel-sel granulosa untuk terjadinya luteinisasi.

2.1.5 Folikel *De Graaf*

Fase ini merupakan proses penentuan atau seleksi satu folikel dominan yang akan berovulasi. Kadar FSH yang menurun menyebabkan folikel antral yang lebih kecil mengalami atresia, sedangkan folikel dominan terus tumbuh dengan mengakumulasi jumlah sel-sel granulosa dan reseptor FSH yang lebih banyak. Kadar estrogen yang meningkat dalam folikel memberi umpan balik positif ke hipofise untuk menghasilkan lonjakan LH. Lonjakan LH tersebut menyebabkan terbentuknya progesterone di sel-sel granulosa. FSH, LH dan progesterone menstimulasi enzim-enzim proteolitik yang berdegradasi kolagen di dinding folikel sehingga mudah ruptur. Prostaglandin yang terbentuk menyebabkan otot-otot polos ovarium berkontraksi sehingga membantu pelepasan ovum.

Sel-sel stratum granulosa, jaringan ikat dan pembuluh darah kecil di ovarium mulai berproliferasi setelah terjadi ovulasi. Sel-sel granulosa membesar dan mengandung lutein dengan banyak kapiler dan jaringan ikat di antaranya serta berwarna kekuningan yang disebut korpus luteum. Korpus luteum tersebut dipertahankan sampai plasenta terbentuk sempurna jika terjadi pembuahan atau

fertilisasi, sebaliknya jika tidak terjadi fertilisasi sel-selnya mengalami atropi dan terbentuklah korpus albicans (Wiknjosastro, 2009).



Sumber : Syari, 2015

Gambar 2.1
Ovarium dan Folikel-folikel dalam Berbagai Tingkat Perkembangan

2.2 Mencit

Mencit merupakan salah satu hewan coba dengan data biologis mencit laboratorium menurut Muliani (2011) sebagai berikut :

Lama hidup	: 1-2 tahun bahkan bisa mencapai 3 tahun
Lama produksi ekonomis	: 9 bulan
Lama bunting	: 19-21 hari
Kawin sesudah beranak	: 1-24 jam
Umur disapih	: 21 hari
Umur dewasa	: 35 hari

Umur dikawinkan	: 8 minggu (56 hari)
Siklus kelamin	: poliestrus
Siklus estrus (birahi)	: 4-5 hari
Lama estrus	: 12-24 jam
Ovulasi	: dekat akhir periode estrus
Berat badan dewasa	: 20-40 gram jantan dan 18-35 gram betina
Jumlah anak	: rata-rata 6 ekor, bisa mencapai 15 ekor
Uterus	: dua kornu, bermuara sebelum serviks
Perkawinan kelompok	: 4 betina dan 1 jantan

2.2.1 Anatomi alat kelamin mencit betina (*Mus musculus*)

Alat kelamin mencit betina dibagi menjadi tiga bagian (Muliani, 2011), yaitu :

1. Gonad atau ovarium merupakan bagian alat kelamin yang utama dan menghasilkan sel telur. Terdapat sepasang ovarium yang terletak di dekat ginjal. Pertumbuhan dan perkembangan histologis ovarium selama masa reproduksi diatur oleh hormon yang berasal dari kelenjar hipofise. Pada umur 50-60 hari gonad mencit betina sudah matang.
2. Saluran reproduksi betina, yaitu : oviduk, uterus, serviks dan vagina.
3. Alat kelamin luar terdiri dari vulva dan klitoris

2.2.2 Siklus reproduksi mencit betina

Mencit merupakan hewan mamalia yang memiliki siklus kelamin poliestrus. Satu siklus birahi terbagi atas 4 periode yang dikelompokkan menjadi 2 fase, yaitu fase folikuler (proestrus dan estrus) dan fase luteal (metestrus dan diestrus). Masing-masing periode dapat diketahui dengan pemeriksaan ulas vagina, mengamati tingkah laku dan perubahan alat kelamin luar.

Periode proestrus pada ovarium terjadi selama terjadi perkembangan folikel sampai terbentuk folikel *de Graaf* di bawah pengaruh hormon FSH dan LH. Proses ovulasi dimulai dengan terjadinya peningkatan pertumbuhan sel-sel epitel oviduk, vaskularisasi pada mukosa uterus dan mukosa vagina. Korpus luteum mengalami vakuolisasi, degenerisasi dan pengecilan secara cepat (Muliani, 2011). Kadar estrogen dalam darah pada periode ini mengalami peningkatan dan diikuti oleh penurunan kadar progesterone. Selama periode ini vagina dilapisi oleh epitel skuamosa bertanduk (keratinasi) dengan lapisan permukaan yang jelas dari sel epitel kolumnar yang mengalami vakuolisasi yang mengelupas ke dalam lumen (Muliani, 2011).

Periode estrus berlangsung 12 jam, merupakan periode mencit betina dan jantan yang akan berkopulasi. Estrogen yang dihasilkan oleh folikel *de Graaf* menyebabkan terjadinya perubahan pada saluran reproduksi, yaitu dinding tuba mulai berkontraksi, fimbriae merapat pada ovarium, vaskularisasi uterus meningkat, terjadi peningkatan mitosis dalam mukosa vagina. LH mengalami peningkatan yang diikuti dengan terjadinya ovulasi dan terbentuknya korpus luteum. Vagina pada masa estrus

ditutupi oleh lapisan tebal dari keratin sebanyak lima sampai enam lapisan epitel skuamosa. Hal tersebut merangsang hipofisis anterior mensekresi LH yang diperlukan untuk ovulasi. LH akan menstimulasi diproduksinya $\text{PGF}_2 \alpha$ dan selanjutnya $\text{PGF}_2 \alpha$ akan menstimulasi enzim kolagenase dari sel folikel. Enzim ini berperan dalam merapuhkan dinding folikel sehingga dinding folikel pecah yang diikuti dengan keluarnya ovum (Muliani, 2011).

Metestrus merupakan lanjutan periode estrus, dimana sel-sel granulosa dan sel teka yang berasal dari folikel yang telah pecah akan membentuk korpus luteum. Fungsi korpus luteum pada mencit dipengaruhi oleh stimulasi serviks-vagina yang terjadi selama kopulasi. Stimulasi ini menyebabkan korpus luteum mensekresikan progesteron. Fase ini pada tikus berlangsung sekitar 21 jam dimana pertumbuhan korpus luteum sangat cepat. Uterus siap menerima dan memberi makanan pada embrio. Progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum menghambat sekresi FSH dan LH. Uterus dan saluran reproduksi mengalami regresi dan secara fisiologis menjadi kurang aktif jika kehamilan tidak berlangsung (Muliani, 2011).

Fase terakhir dan terlama dari siklus estrus adalah fase diestrus. Pada tahap ini terbentuk folikel-folikel primer yang belum tumbuh dan beberapa yang mengalami pertumbuhan awal. Fase ini disebut juga dengan fase istirahat karena mencit betina sama sekali tidak tertarik pada mencit jantan. Pada apusan vagina akan terlihat banyak sel sel epitel berinti dan sel leukosit (Muliani, 2011).

2.2.3 Histologi ovarium mencit betina

Ovarium tersusun atas folikel-folikel dalam berbagai fase perkembangan, mulai dari folikel yang dikelilingi satu lapis sel epitel kuboid sampai yang dilapisi sel-sel epitel kolumnar. Ovarium juga terdiri atas jaringan interstisial dan jaringan stromal yang berisi pembuluh darah, saraf dan limfe (Muliani, 2011).

Folikel mencit diklasifikasikan menjadi 3 jenis, berdasarkan ukuran oosit, ukuran folikel dan morfologinya menurut (Muliani, 2011), yaitu:

1. Folikel primer/folikel kecil

Folikel-folikel fase ini memiliki ukuran oosit kurang dari 20 μm tanpa diliputi sel-sel granulosa. Namun dapat juga ditemukan sel oosit yang diliputi beberapa sel granulosa, bahkan sampai di kelilingi sel granulosa.

2. Folikel sekunder/folikel sedang

Folikel-folikel fase ini memiliki ukuran oosit 20-70 μm yang dikelilingi satu lapisan sel granulosa (21 sel granulosa) hingga dua lapisan sel granulosa (101-200 sel granulosa).

3. Folikel *de Graaf*/folikel besar

Folikel-folikel pada fase ini menunjukkan perkembangan penuh dari oosit, diselimuti 200-600 sel granulosa, mulai terlihat antrum bahkan kumulus ooforus yang merupakan bagian folikel preovulasi.

Folikel yang tidak berkembang akan mengalami atresia yang ditandai dengan sel teka dan sel granulosa yang intak, beberapa sel mulai terlepas dan masuk dalam antrum. Kumulus ooforus tampak tidak utuh dan degenerasi oosit sudah pada

tahap lanjut. Terlihat di dalam antrum, sisa oosit di kelilingi zona pelusida tebal. Atresia tahap lanjut ditandai dengan sel teka interna yang hipertrofi, tidak ditemukan sel granulosa, membran vital menebal, jaringan ikat dari stroma telah mengisi sebagian rongga folikel yang mulai mengecil namun masih mengandung cairan. Pada atresia tahap akhir, seluruh folikel telah digantikan oleh jaringan ikat.

2.3 Rokok

2.3.1 Pengertian rokok

Rokok adalah hasil olahan tembakau yang terbungkus, dihasilkan dari tanaman *Nicotiana Tabacum*, *Nicotiana Rustica* dan spesies lainnya atau sintetisnya yang mengandung nikotin dan tar dengan atau tanpa bahan tambahan (Heryani, 2014).

2.3.2 Jenis rokok

Rokok dibedakan berdasarkan bahan baku, di antaranya :

1. Rokok Putih : rokok yang bahan baku atau isinya hanya daun tembakau yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu. Rokok putih mengandung 14-15 mg tar dan 5 mg nikotin (Alamsyah, 2009).
2. Rokok Kretek : rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau dan cengkeh yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu. Rokok kretek mengandung 20 mg tar dan 44-45 mg nikotin (Alamsyah, 2009).

3. Rokok Klembak : rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau, cengkeh, dan kemenyan yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.

Rokok berdasarkan penggunaan filter menurut Alamsyah (2009) dibagi dua jenis :

1. Rokok Filter (RF) : rokok yang pada bagian pangkalnya terdapat gabus.
2. Rokok Non Filter (RNF) : rokok yang pada bagian pangkalnya tidak terdapat gabus.

2.3.3 Kandungan rokok

Menurut Gondodiputro (2007) bahan utama rokok adalah tembakau, dimana tembakau mengandung kurang lebih 4000 elemen-elemen dan setidaknya 200 di antaranya berbahaya bagi kesehatan. Racun utama pada tembakau adalah tar, nikotin, dan CO. Sebatang tembakau juga mengandung bahan-bahan kimia lain yang juga sangat beracun. Zat-zat beracun yang terdapat dalam tembakau antara lain:

1. Karbon Monoksida (CO)

CO merupakan unsur yang dihasilkan oleh pembakaran tidak sempurna dari unsur zat arang atau karbon. Gas CO yang dihasilkan sebatang tembakau dapat mencapai 3% -6%, dan gas ini dapat dihisap oleh siapa saja. Seorang yang merokok hanya akan menghisap sepertiga bagian saja yaitu arus tengah sedangkan arus pinggir akan tetap berada di luar, sesudah itu perokok tidak akan menelan semua asap tetapi disemburkan keluar.

2. Nikotin

Nikotin adalah suatu zat yang memiliki efek adiktif dan psikoaktif sehingga perokok akan merasakan kenikmatan, kecemasan berkurang, toleransi dan keterikatan. Nikotin bukan merupakan komponen karsinogenik. Banyaknya nikotin yang terkandung dalam rokok adalah sebesar 0,5-3 nanogram dan semuanya diserap sehingga di dalam cairan darah ada sekitar 40-50 nanogram nikotin setiap 1ml.

3. Tar

Tar merupakan suatu zat karsinogen yang dapat menimbulkan kanker pada jalan nafas dan paru-paru. Tar adalah sejenis cairan kental berwarna coklat tua atau hitam yang merupakan substansi hidrokarbon yang bersifat lengket dan menempel pada paru-paru. Kadar tar dalam tembakau antara 0,5-35 mg/batang.

4. Amoniak

Amoniak merupakan gas yang tidak berwarna terdiri dari nitrogen dan hidrogen, zat ini memiliki bau yang tajam dan sangat merangsang. Karena kerasnya racun yang terdapat pada amoniak sehingga jika masuk sedikit saja ke dalam peredaran darah akan mengakibatkan seseorang pingsan atau koma.

5. Asam Sianida (HCN)

HCN merupakan sejenis gas yang tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa. Zat ini merupakan zat yang paling ringan, mudah terbakar, dan sangat efisien untuk menghalangi pernafasan dan merusak saluran pernafasan.

6. Nitrous Oxide

NO merupakan sejenis gas yang tidak berwarna, dan bila terhisap dapat menghilangkan rasa sakit. Nitrous Oxide ini pada mulanya digunakan dokter sebagai pembius saat melakukan operasi.

7. Formaldehid

Formaldehid adalah sejenis gas yang memiliki bau tajam, gas ini tergolong sebagai pembasmi hama. Gas ini juga sangat beracun terhadap semua organisme hidup.

8. Fenol

Fenol adalah campuran dari kristal yang dihasilkan dari beberapa zat organik seperti kayu dan arang, serta diperoleh dari tar arang. Zat ini beracun dan membahayakan karena fenol ini terikat ke protein sehingga menghalangi aktivitas enzim.

9. Metanol

Metanol adalah sejenis cairan ringan yang mudah menguap dan mudah terbakar. Orang meminum atau menghisap metanol mengakibatkan kebutaan bahkan kematian.

10. Piridin

Piridin adalah sejenis cairan tidak berwarna dengan bau tajam. Zat ini dapat digunakan untuk mengubah sifat alkohol sebagai pelarut dan pembunuh hama.

11. Kadmium

Kadmium adalah zat yang dapat meracuni jaringan tubuh terutama ginjal.

12. Metil klorida

Metil klorida adalah zat ini adalah senyawa organik yang beracun.

13. Asetol

Asetol adalah hasil pemanasan aldehid dan mudah menguap dengan alkohol.

14. Volatik nitrosamine

Volatik nitrosamine merupakan jenis asap tembakau yang diklasifikasikan sebagai karsinogen yang potensial.

15. H₂S (Asam Sulfida)

H₂S adalah sejenis gas yang beracun yang mudah terbakar dengan bau yang keras, zat ini menghalangi oksidasi enzim.

16. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)

Senyawa ini merupakan senyawa reaktif yang cenderung bersifat genotoksik. Senyawa tersebut merupakan penyebab tumor (Gondodiputro, 2007).

2.3.4 Radikal bebas dalam asap rokok

Senyawa-senyawa kimia dalam rokok akan menghasilkan berbagai radikal bebas yang pada akhirnya memicu terjadinya stres oksidatif dalam tubuh. Tar menghasilkan radikal superoksida ($O_2\cdot^-$), radikal hidrogen peroksida (H_2O_2), dan 32 radikal hidroksil ($\cdot OH$). Logam kadmium memicu terjadinya reaksi Fenton yang menghasilkan radikal hidroksil. Oksidasi senyawa PAH menghasilkan radikal superoksida. Oksidasi NO menghasilkan radikal senyawa nitrogen reaktif (SNR). Radikal-radikal bebas dari asap rokok juga dapat merusak vitamin dan antioksidan

enzimatis dalam tubuh. Kerusakan pada vitamin dan antioksidan enzimatis dalam tubuh akan semakin mempermudah terjadinya stress oksidatif dalam sel (Valavanidis, *et al.* 2009).

2.3.5 Efek asap rokok terhadap folikulogenesis

Radikal bebas yang dihasilkan asap rokok akan masuk dalam peredaran darah, sehingga dapat mengganggu semua sel dan jaringan dalam tubuh, termasuk gangguan folikulogenesis dalam ovarium. Pemaparan asap rokok pada mencit betina selama tujuh minggu, terbukti menyebabkan gangguan folikulogenesis (Marhaeni, 2009).

Berbagai penelitian telah membuktikan adanya gangguan folikulogenesis yang disebabkan oleh senyawa-senyawa kimia dalam asap rokok, seperti :

1. Nikotin mengurangi perkembangan kompleks cumulus oosit pada folikel babi dan bison (Liu, *et al.* 2008).
2. Kadmium diketahui dapat menyebabkan retraksi sitoplasma pada media kultur sel-sel granulosa folikel manusia (Dechanet *et al.* 2011). Percobaan in vitro pada sel-sel granulosa folikel tikus membuktikan kadmium juga menghambat aktivitas SOD (Nampoothiri, *et al.* 2007).
3. *Benzo(a)pyrene* (BaP) dan metabolit-metabolitnya mengurangi jumlah folikel di semua fase dan mengurangi berat ovarium mencit pada penelitian oleh Mattison *et al.*, pada tahun 1989 (Dechanet, *et al.* 2011). BaP menghambat pertumbuhan folikel tikus pada media kultur (Neal, *et al.* 2007). Penelitian pada kompleks kumulus oosit manusia, diketahui bahwa BaP menghambat pertumbuhan folikel

dan mengurangi sintesis estradiol (Neal, *et al.* 2007). BaP juga menurunkan jumlah folikel pada media kultur ovarium mencit (Tuttle, *et al.* 2009).

2.3.6 Mekanisme gangguan folikulogenesis akibat asap rokok

Radikal bebas dari asap rokok mengakibatkan gangguan melalui dua mekanisme, yaitu gangguan pada aksis hipotalamus-hipofisis-ovary ataupun gangguan langsung pada ovarium. Radikal bebas akan menyebabkan stress oksidatif pada otak sehingga berakibat pada degenerasi dari sel-sel di otak (terlebih lagi pada beberapa bagian otak yang tidak memiliki sawar darah otak, misalnya hipotalamus). Degenerasi sel-sel otak akan menyebabkan kerusakan dari hipotalamus sehingga kadar hormon GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) akan menurun dan akan berdampak pada penurunan kadar hormon FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) yang secara otomatis juga berdampak pada pembentukan hormon esterogen, hal ini akan mengganggu proses pertumbuhan dan perkembangan folikel di korteks ovarium (Putra, 2014).

Mekanisme kedua terjadi ketika radikal bebas dari asap rokok dapat merusak vitamin dan antioksidan enzimatis dalam tubuh. Kerusakan pada vitamin dan antioksidan enzimatis dalam tubuh semakin mempermudah terjadinya stress oksidatif dalam sel. Stress oksidatif dapat mengganggu mekanisme perbaikan diri pada mitokondria. Mitokondria merupakan organel sel yang penting dalam menjaga kehidupan sel karena berfungsi sebagai penghasil energi/ATP bagi sel melalui proses fosforilasi oksidatif. Mitokondria juga berperan dalam proses metabolisme seperti siklus Krebs dan oksidasi asam lemak. Proses metabolisme dalam mitokondria akan

menghasilkan SOR, namun mitokondria dapat menghasilkan antioksidan untuk menetralkan SOR. Mitokondria juga dapat melakukan proses *fusion* dan *fission* sebagai bentuk mekanisme perbaikan diri (Westermann, 2010).

Autofagi adalah proses dimana komponen-komponen dalam sitoplasma termasuk makromolekul (protein, glikogen, lipid dan nukleotida) dan organel (mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasma) didegradasi oleh enzim-enzim lisosom (Mizushima *and* Levine, 2010). Terdapat tiga macam autofagi yaitu makroautofagi, mikroautofagi dan *chaperone-mediated autophagy*. Autofagi terjadi dalam keadaan sel kekurangan nutrisi, stres oksidatif, hipoksia, maupun terpapar organisme patogen. Autofagi bertujuan untuk mempertahankan homeostasis sel dan menjaga kelangsungan hidup sel-sel lainnya yang masih sehat (Gannon, 2013).

Asap rokok mengandung banyak senyawa kimia yang menghasilkan radikal-radikal bebas sekaligus merusak antioksidan endogen sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif dapat mengganggu mekanisme perbaikan diri pada mitokondria. Mitokondria yang gagal memperbaiki diri akan memicu proses autofagi yang berkepanjangan. Autofagi yang terjadi terus-menerus akan menyebabkan kematian sel-sel granulosa, dan berdampak pada gangguan folikulogenesis. Sel-sel granulosa yang mengalami kematian maka akan mengganggu proses pertumbuhan dan perkembangan folikel di korteks ovarium (Gannon, 2013).

2.4 Umbi Bit Merah

Umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) atau sering juga dikenal dengan sebutan akar bit merupakan tanaman berbentuk akar yang mirip umbi-umbian, termasuk dari famili *Chenopodiaceae*. Umbi bit merah merupakan tumbuhan yang banyak dijumpai di Eropa dan sebagian Asia serta Amerika. Ciri fisik jenis bit merah adalah umbinya berbentuk bulat seperti kentang dengan warna merah-ungu gelap, tinggi hanya berkisar 1-3 meter, dan apabila dipotong buahnya akan terlihat garis putih-putih dengan warna merah muda. Buah bit mengandung vitamin C yang cukup tinggi sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan yang dapat mencegah penyakit kanker. Buah bit juga memiliki komponen utama yaitu pigmen betasianin yang memberikan warna merah keunguan (Wibawanto, 2014).

Lembar daun bit berbentuk oblong atau segitiga. Kultivar daun dapat memiliki sembir daun bergelombang atau lurus, dan permukaan daun rata atau keriting. Tangkai daun bit ramping dan panjangnya beragam. Sistem perakaran bit sangat efisien dan menyebabkan tanaman agak toleran terhadap kekeringan (Wibawanto, 2014).

Umbi bit hanya dapat tumbuh dengan baik di dataran tinggi dengan ketinggian lebih dari 1.000 dpl, terutama bit merah, akan tetapi jenis bit putih dapat ditanam pada daerah dengan ketinggian 500 dpl. Umbi bit walaupun dapat tumbuh di dataran rendah, namun tidak mampu membentuk umbi. Tanaman bit dapat dipanen pada umur 2,5-3 bulan, namun semakin tua tanaman bit, semakin banyak kandungan

gula sehingga rasanya bertambah manis, kadar vitamin C juga semakin tinggi, tetapi jika terlalu tua umbinya menjadi agak keras atau mengayu (Wibawanto, 2014).

2.4.1 Taksonomi umbi Bit merah

Taksonomi umbi bit merah diklasifikasikan sebagai berikut (Splittstoesser, 1984 dalam Wibawanto, 2014) :

Kingdom	<i>Plantae (tumbuhan)</i>
Subkingdom	<i>Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)</i>
Super Divisi	<i>Spermatophyta (mengandung biji)</i>
Divisi	<i>Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)</i>
Kelas	<i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	<i>Hamamelidae</i>
Ordo	<i>Caryophyllales</i>
Famili	<i>Chenopodiaceae</i>
Genus	<i>Beta</i>
Spesies	<i>Beta vulgaris L</i>



Sumber : Nisa, 2015

Gambar 2.2
Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L*)

2.4.2 Golongan senyawa antioksidan pada umbi bit merah

Umbi bit merah (*Beta vulgaris*) atau sering juga dikenal dengan sebutan akar bit merupakan tanaman berbentuk akar yang mirip umbi-umbian. Terdapat empat jenis dari bit yaitu bit merah (*beetroot*), *swiss chard*, *sugar beet*, *fodder beet*. Komponen utama pada bit ialah pigmen betalain yang memberikan warna merah keunguan. Beberapa penelitian buah bit termasuk dalam 10 buah dengan antioksidan tertinggi. Betalain merupakan pigmen bernitrogen dan bersifat larut dalam air, mempunyai dua subklas yaitu betacyanin dan betaxanthin yang masing-masing memberikan warna merah-violet dan kuning-oranye pada bunga, buah dan jaringan vegetatif. Komponen pokok betalain yang terdapat pada umbi bit yaitu betacyanin yang disebut betanin. Sifat betalain pada umbi bit merah dipengaruhi oleh pH, cahaya, udara, serta aktivitas air, dengan stabilitas pigmen yang lebih baik pada suhu rendah ($< 14^{\circ}\text{C}$) pada kondisi gelap, dengan kadar udara rendah di atas rentang pH 5-7, tetapi lebih stabil pada pH 5,6 (Mastuti, 2010 dalam Anam, 2013).

Umbi bit merah kaya akan berbagai kandungan vitamin B yaitu vitamin B1, B2, B3 dan B6. Kandungan gizi utama umbi bit merah adalah asam folat, serat dan gula, namun nilai kalori umbi bit merah masih tergolong sedang. Kandungan antioksidan lain dalam umbi bit merah yaitu fenolik dengan total flavonoid $10,19 \pm 1,7$ mg/100 g berat segar dan total fenol $57,64 \pm 1,2$ mg/100 g berat segar, artinya kandungan total fenolnya lebih tinggi dibandingkan dengan buah dan sayuran lainnya (Venkatachalam, 2014).

2.4.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Radikal bebas yang terbentuk selama oksidasi berada dalam keadaan yang sangat tidak stabil sehingga memiliki kecenderungan melepaskan elektron atau menyerap elektron dari sel. Elektron-elektron bebas yang dilepaskan atau ditangkap oleh radikal bebas, maka akan terbentuk radikal bebas yang baru. Radikal bebas yang baru terbentuk akan terus melakukan hal yang sama, dengan cara ini rantai radikal bebas tercipta. Kondisi ini jika terus terjadi dalam waktu yang lama, sel tubuh akan menjadi rusak. Antioksidan membantu mengubah radikal bebas yang tidak stabil ke dalam bentuk yang stabil.

Menurut Kumalaningsih (2007), atas dasar fungsinya terdapat lima jenis antioksidan, salah satunya disebut antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh adalah antioksidan yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

Antioksidan yang banyak terkandung dalam umbi Bit merah yang dapat meredam kerja dari radikal bebas adalah senyawa fenol dan senyawa flavonoid. Senyawa fenol adalah senyawa yang memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi. Senyawa fenol merupakan senyawa yang mudah larut dalam air karena umumnya sering kali berikatan dengan glikosida. Fenol bereaksi dengan menghancurkan radikal peroksi ($\text{ROO}\cdot$) dan radikal hidroksi ($\text{HO}\cdot$). Radikal peroksi dan radikal hidroksi mengambil atom hidrogen fenol sehingga menghasilkan radikal fenoksi yang lebih stabil (Lim, *et al.* 2007).

Senyawa flavonoid mempunyai struktur sebagai antioksidan dan penangkap radikal adalah yang mengandung gugus hidroksi pada posisi karbon tiga, ikatan ganda antara karbon posisi dua dan tiga, gugus karbonil pada posisi karbon empat, dan polihidroksi pada dua cincin aromatik. Aksi senyawa flavonoid sebagai antioksidan dapat dibagi menjadi dua mekanisme, yaitu menangkal atau mengkelat radikal. Mekanisme menangkal radikal yaitu dengan menekan pembentukan radikal sehingga mencegah kerusakan oksidatif, sedangkan mengikat radikal bebas, yaitu dengan menyumbangkan atom hidrogen atau elektron untuk membuat radikal bebas lebih stabil (Lim, *et al.* 2007).