

## PENGARUH KONSUMSI MINUMAN BEROKSIGEN TERHADAP INFLAMASI DAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN PENDERITA PENYAKIT-PARU-OBSTRUKTIF-KRONIK (PPOK)

[Influence of Oxygenated Water Consumption in  
Chronic-Obstructive-Pulmonary-Disease (COPD) Patients]

Fransiska Rungkat Zakaria<sup>1)</sup>, Intan Nurul Azni<sup>2)\*</sup>, Elvira Syamsir<sup>2)</sup>, Amalia KM.<sup>3)</sup> dan Cholid Yamani<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>2)</sup>Program Studi Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>3)</sup>Klinik dr. Katili, Jl. Raya Dramaga, Bogor

Diterima 01 Agustus 2013 / Disetujui 05 Februari 2014

### ABSTRACT

Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is one of the leading cause of death in the world that represents an important public health problem. Oxygenated water is water added with high concentration of oxygen such that the oxygen concentration is higher than normal water. The objective of this study was to assess the influence of oxygenated water consumption on the alteration of proinflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , and IL6) and antioxidant capacity of COPD patients. Sixteen COPD patients were allowed to drink 385 mL oxygenated water two times a day for 21 days. The alteration of proinflammatory cytokines and antioxidant capacity are measured by comparing plasma concentration before and after intervention. The results suggest that oxygenated water consumption significantly reduce proinflammatory cytokines plasma (TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , and IL6) at 5% significance level with 81.25% of respondents having lower TNF- $\alpha$ , 75% of respondents with lower IL-1 $\beta$ , and 62.25% of respondents having lower the IL-6 in plasma concentration after 21 days intervention. There were 43.75% of respondents with decreased antioxidant capacity concentration. However, it was not significant at the 5% level significance. Decrease in antioxidant capacity was probably a resulted from poordiet and drugs consumption during the intervention period.

**Keywords:** antioxidant-capacity, COPD, proinflammatory-cytokines, oxygenated water

### ABSTRAK

Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK) merupakan salah satu penyakit penyebab kematian terbesar di dunia dan telah menjadi masalah kesehatan masyarakat. Minuman beroksigen adalah air yang ditambahkan dengan oksigen dengan konsentrasi tinggi sehingga konsentrasi oksigen yang terkandung di dalamnya lebih tinggi dari air biasa. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh dari konsumsi minuman beroksigen terhadap perubahan nilai absorbansi sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6) dan kapasitas antioksidan total pada penderita PPOK. Sebanyak 16 penderita PPOK diminta untuk mengonsumsi 385 mL minuman beroksigen dua kali sehari selama 21 hari. Perubahan nilai absorbansi sitokin proinflamasi dan kapasitas antioksidan total diukur dengan membandingkan perubahannya sebelum dan setelah periode intervensi. Setelah 21 hari, nilai absorbansi sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6) menunjukkan penurunan yang signifikan ( $p < 0.05$ ). Sebanyak 81.25% responden mengalami penurunan nilai absorbansi TNF- $\alpha$ , 75% responden mengalami penurunan nilai absorbansi IL-1 $\beta$ , dan 62.25% responden mengalami penurunan nilai absorbansi IL-6. Sebanyak 43.75% responden mengalami penurunan kapasitas antioksidan total, namun penurunan ini tidak signifikan ( $p > 0.05$ ). Penurunan kapasitas antioksidan total diduga disebabkan pola makan yang buruk dan konsumsi obat-obatan selama periode intervensi.

**Kata kunci:** kapasitas-antioksidan-total, minuman-beroksigen, PPOK, sitokin-proinflamasi

### PENDAHULUAN

Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK) merupakan penyakit paru kronik yang menjadi masalah kesehatan masyarakat karena angka kesakitan dan kematian yang disebabkan penyakit ini sangat tinggi. Di tahun 2004, 64 juta orang menderita penyakit ini. Di tahun 2005, PPOK telah menjadi penyebab kematian dari lebih dari 3 juta orang di dunia (WHO, 2012).

Minuman beroksigen merupakan air yang ditambahkan oksigen dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar oksigen yang secara alami sudah terdapat dalam air. Menurut Speit *et al.* (2002), air minum biasa hanya mengandung 5-7 ppm oksigen sedangkan pada minuman beroksigen kadarnya dapat mencapai 80-130 ppm.

Salah satu keraguan dari minuman beroksigen adalah adanya kemungkinan berkurangnya kadar oksigen setelah kemasannya dibuka. Ketika oksigen telah berkurang, maka oksigen yang masuk ke saluran pencernaan dikhawatirkan akan sangat sedikit sehingga tidak memberikan pengaruh terhadap peningkatan oksigen. Namun menurut Nestle *et al.* (2003) dengan uji *in vivo* dalam mulut, ketersediaan oksigen dalam

\*Penulis Korespondensi:  
E-mail: inazni@gmail.com

minuman beroksigen setelah dikonsumsi dan dikumur-kumur dalam mulut selama 10 detik, masih dalam konsentrasi yang cukup tinggi, yaitu  $\pm 140$  ppm.

Beberapa studi telah meneliti mengenai manfaat konsumsi minuman beroksigen. Hasil studi menimbulkan pro dan kontra terhadap manfaat konsumsi minuman beroksigen. Penelitian yang dilakukan oleh Wing *et al.* (2003), menunjukkan bahwa suplementasi minuman beroksigen tidak memiliki efek yang signifikan terhadap oksigenasi darah pada keadaan hipoksemia selama 60 menit. Studi yang dilakukan oleh Wing-Gaia *et al.* (2005) menunjukkan konsumsi minuman beroksigen tidak meningkatkan performa berolahraga pada subjek pria yang aktif berolahraga dengan durasi sedang. Selain itu, penelitian Sommer *et al.* (2007) menunjukkan bahwa pemberian minuman beroksigen tidak memberikan pengaruh terhadap peningkatan fungsi kognitif.

Penelitian yang dilakukan oleh Forth dan Adam (2001) menunjukkan bahwa air dengan kandungan oksigen 80 ppm dapat meningkatkan konsentrasi oksigen dalam vena porta hati sebesar 10 mmHg. Penelitian lain yang dilakukan oleh Jung *et al.* (2012) menunjukkan pemberian minuman beroksigen pada babi dapat meningkatkan fungsi imun dengan meningkatkan proliferasi sel mononuklear pada pembuluh darah perifer, interleukin 1 $\beta$ , dan rasio sel CD4 $^{+}$ :CD8 $^{+}$ .

Kekhawatiran dalam konsumsi minuman beroksigen adalah dugaan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) karena suplai oksigen dalam konsentrasi tinggi. Hal tersebut dikhawatirkan dapat menyebabkan luka pada sel termasuk kerusakan DNA bila pertahanan antioksidan dalam tubuh tidak baik. Namun berdasarkan penelitian Speit *et al.* (2002), konsumsi minuman beroksigen tidak menimbulkan efek genotoksik berdasarkan uji *in vivo* dan *in vitro*. Penelitian dilakukan oleh Handajani *et al.* (2009) menunjukkan kadar MDA pada subjek diabetes mellitus dengan status gizi normal yang diberikan minuman beroksigen selama 45 hari cenderung menurun. Studi yang dilakukan oleh Gruber *et al.* (2005) menunjukkan konsumsi air beroksigen dalam jangka panjang tidak membahayakan hati, sel darah, dan sistem imun. Penelitian lain yang dilakukan oleh Wing *et al.* (2003) menunjukkan bahwa suplementasi minuman beroksigen pada keadaan hipoksia tidak meningkatkan kadar MDA dan mampu menurunkan lipid peroksidase. Sampai saat ini belum ada studi yang meneliti tentang manfaat konsumsi minuman beroksigen pada penderita PPOK. Sedangkan saat ini penderita PPOK semakin bertambah akibat gaya hidup yang tidak sehat dan buruknya kondisi lingkungan. Oleh karena itu, studi mengenai pengaruh konsumsi minuman beroksigen pada penderita PPOK perlu dilakukan agar diketahui sejauh mana manfaat dari konsumsi minuman tersebut bagi penderita PPOK. Dalam penelitian ini diteliti pengaruh konsumsi minuman beroksigen secara rutin oleh penderita PPOK. Parameter yang akan dianalisis adalah nilai absorbansi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan kadar kapasitas antioksidan total dalam plasma darah. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6 dianalisis untuk mengetahui kondisi inflamasi sistemik setelah pemberian minuman beroksigen. Sedangkan kapasitas antioksidan total dianalisis karena berhubungan dengan kemungkinan terbentuknya *reactive oxygen species* akibat pemberian oksigen dalam konsentrasi tinggi.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel minuman beroksigen dengan konsentrasi oksigen sebesar 100 ppm, plasma darah responden yang diambil sebelum dan sesudah periode intervensi, *antioxidant assay kit* (Sigma Aldrich CS0790), *mouse monoclonal TNF- $\alpha$  antibody* (Santa Cruz sc-101425), *mouse monoclonal IL-1 $\beta$  antibody* (Santa Cruz sc-52865), *mouse monoclonal IL-6 antibody* (Santa Cruz sc-28343), *mouse IgG antibody (HRP)* (Gene Tex GTX26789), dan substrat TMB/3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine Liquid Substrate (Sigma-Aldrich T4444).

### Persiapan responden

Responden sejumlah 16 orang berasal dari pasien yang terdaftar pada poli paru Klinik dr. Katili Dramaga, Bogor. Pemilihan calon responden berdasarkan catatan rekam medis pasien klinik tersebut. Calon responden yang terpilih adalah pasien klinik dr. Katili yang memiliki riwayat keterbatasan kronis pada paru. Calon responden kemudian diundang untuk dilakukan pemeriksaan fisik, laboratorium, radiologi, EKG dan spirometri. Hasil pemeriksaan lalu ditelaah oleh dokter spesialis paru klinik untuk menentukan apakah calon responden tersebut memiliki diagnosis PPOK. Pasien yang hasil pemeriksaannya terdiagnosis PPOK kemudian diundang lagi untuk mendapat penjelasan mengenai penelitian ini. Calon responden yang bersedia terlibat dalam penelitian ini kemudian diminta kesediaannya untuk menandatangani *informed consent*.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI dengan nomor *ethical approval* KE.01.10/EC/650/2012.

### Pelaksanaan intervensi

Setiap responden diberikan minuman beroksigen sebanyak 2 botol per hari. Pemberian minuman beroksigen tersebut dilakukan dengan cara mendatangi langsung responden ke rumahnya dua kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari selama 21 hari. Minuman beroksigen yang diberikan pada responden ialah sebanyak 385 mL per botol dengan kandungan oksigen 100 ppm per botol.

Selama periode intervensi, kebiasaan, jenis dan jumlah makanan dan minuman, dan merokok terus dipantau, selain itu kondisi psikis pasien juga dipantau melalui pengisian kuesioner. Kuesioner diisi dengan melakukan wawancara langsung pada responden penderita PPOK pada hari pertama, keempat, ketujuh, keempat belas, dan kedua puluh satu.

### Pengambilan darah

Pengambilan darah akan dilakukan 2 kali selama rangkaian penelitian, yaitu pada tahap awal (sebelum intervensi) dan pada akhir kegiatan (hari ke-21). Darah responden yang diambil kemudian disentrifus (*Eppendorf Centrifuge 5417C*) dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifus (*Eppendorf Centrifuge 5417C*), akan diperoleh tiga lapisan yaitu plasma darah (lapisan atas), *buffy coat* yang mengandung sel darah putih (lapisan tengah), dan sel darah merah (lapisan

bawah). Plasma kemudian disimpan dalam freezer dengan suhu -20°C untuk digunakan sebagai sampel (Perdani, 2012).

#### Analisis sitokin proinflamasi (Santa Cruz Biotechnology, Inc- Dallas, Texas)

Analisis sitokin proinflamasi dilakukan dengan metode ELISA *indirect* (modifikasi Anggraini, 2012). Sebanyak 100 µL plasma yang diencerkan dengan *carbonate/bicarbonate buffer* (Sigma Aldrich C3041) (TNF-α = 1: 400, IL-1β dan IL-6 = 1: 500) dimasukkan ke dalam *microplate* 96 well (Corning@Costar 96 Well White Flat Bottom Polystyrene High Bind Microplate 3922), kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama 1 malam. Cairan dalam *microplate* dibuang (dengan cara membalik *microplate* dan dihentakkan) dan dicuci dengan PBST [larutan PBS (Sigma Aldrich P4417) dengan 0.05% Tween 20 (Sigma Aldrich P1379)] sebanyak 200 µL/sumur. Selanjutnya ditambahkan 100 µL *skim milk* (Frisian Flag) 5% pada masing-masing well dan inkubasi pada 37°C selama 1 jam. Cairan dalam *microplate* dibuang dan dicuci dengan PBST. Kemudian ditambahkan antibodi primer, yaitu antibodi *monoclonal anti-TNF α human produced in mouse* (Santa Cruz sc-101425) 1:3000/ antibodi *monoclonal anti-IL-1β human produced in mouse* (Santa Cruz sc-52865) 1:5000/antibodi *monoclonal anti-IL-6 human produced in mouse* (Santa Cruz sc-28343) 1:1000 sebanyak 100 µL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Cairan dalam *microplate* dibuang dan dicuci dengan PBST. Antibodi sekunder yaitu antibodi HRP IgG *anti-mouse* (Gene Tex GTX26789) 1:10.000 ditambahkan sebanyak 100 µL dan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Cairan dalam *microplate* dibuang dan dicuci dengan PBST. Substrat TMB (Sigma-Aldrich T4444) ditambahkan sebanyak 50 µL dan inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Kemudian ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N sebagai *stop solution*. Penghitungan waktu inkubasi dimulai sejak penambahan substrat pada well terakhir. Intensitas warna terbentuk dapat dibaca dengan ELISA reader (Labsystems) pada panjang gelombang 450 nm.

#### Analisis kapasitas antioksidan total

Analisis kapasitas antioksidan total menggunakan metode Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Sigma-Aldrich, 2012) dengan menggunakan *antioxidant assay kit* (Sigma Aldrich CS0790). Sebanyak 10 µL standar Trolox ditambahkan dengan 20 µL larutan mioglobin. Pada well untuk sampel, dimasukkan 10 µL sampel dan 20 µL larutan mioglobin. Lalu ditambahkan 150 µL larutan ABTS ke tiap well. Kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Sebanyak 100 µL *stop solution* ditambahkan ke dalam tiap well dan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 405 nm. Rata-rata absorbansi pada setiap standar Trolox dikalkulasi untuk mendapatkan kurva standar. Lalu konsentrasi antioksidan dikalkulasi dengan menggunakan persamaan yang diperoleh dari regresi linear kurva standar:

$$X \text{ (mM)} = \frac{y(A \ 405) - \text{intercept}}{\text{slope}} \times \text{faktor pengenceran}$$

X (mM) – konsentrasi antioksidan (mM) relatif terhadap konsentrasi standar Trolox.

#### Analisis data

Analisis statistik terhadap data yang diperoleh menggunakan uji t berpasangan untuk melihat adanya pengaruh nyata konsumsi minuman beroksigen sebelum dan sesudah intervensi terhadap nilai absorbansi sitokin proinflamasi dan kapasitas antioksidan total.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Karakteristik responden

Berdasarkan jenis kelamin, responden terdiri dari 11 orang pria dan 5 orang wanita. Berdasarkan usia, responden dikategorikan menjadi 2 bagian yaitu dewasa dan lansia. Kategori ini berdasarkan definisi lansia dari WHO, yaitu yang tergolong lansia adalah yang berumur 60 tahun ke atas. Terdapat 43.77% responden yang dikategorikan ke dalam usia dewasa, sedangkan 56.23% responden dikategorikan ke dalam usia lansia (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin, usia, dan indeks massa tubuh

Karakteristik Individu	Jumlah (orang)	Persentase (%)
Jenis kelamin:		
-Pria	11	68.75
-Wanita	5	31.25
Usia:		
-Dewasa (< 60 tahun)	7	43.77
-Lansia (≥ 60 tahun)	9	56.23
Indeks massa tubuh:		
-Kurang (<18.5 kg/m <sup>2</sup> )	4	25.00
-Normal (18.5-24.9 kg/m <sup>2</sup> )	11	68.75
-Lebih (≥ 25 kg/m <sup>2</sup> )	1	6.25

Berdasarkan kategori jenis kelamin dan usia, responden lebih banyak berjenis kelamin pria dan lansia. Menurut *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* (2011), umur dan jenis kelamin merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan keparahan PPOK. Hal ini terkait dengan kebiasaan merokok yang lebih banyak pada jenis kelamin pria. Sedangkan usia lanjut berhubungan dengan lamanya terpapar dengan asap rokok dan partikel-partikel berbahaya ke dalam paru-paru.

Berdasarkan indeks massa tubuh, responden dibagi menjadi tiga kelompok yaitu *underweight*, normal, dan *overweight*. Pembagian kategori ini berdasarkan kategori WHO (2006), yaitu untuk berat badan kurang apabila memiliki IMT <18.5 kg/m<sup>2</sup>, berat badan normal jika IMT 18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup>, dan berat badan lebih jika IMT ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>. Berdasarkan kategori tersebut, maka mayoritas responden yaitu sebesar 68.75% dikategorikan normal (Tabel 1).

#### Nilai absorbansi sitokin proinflamasi

Nilai absorbansi TNF-α, IL 1-β, dan IL-6 diukur dari plasma darah responden. Analisis nilai absorbansi TNF-α, IL 1-β, dan IL-6 dilakukan dengan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) *indirect*. Hasil dari analisis ini berupa nilai absorbansi atau *optical density*, dimana nilai tersebut akan berkorelasi positif dengan kadar TNF-α, IL 1-β, dan IL-6 pada plasma responden, sehingga semakin tinggi nilai *optical*

densitinya maka semakin tinggi kadarnya dalam plasma darah responden (Crowther, 1995).

#### Nilai absorbansi tumor nekrosis faktor $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

Berdasarkan hasil analisis yang ditampilkan pada Gambar 1, umumnya nilai absorbansi TNF- $\alpha$  pada responden menurun setelah intervensi minuman beroksigen selama 21 hari. Secara rata-rata, penurunan nilai *optical density* TNF- $\alpha$  yaitu dari  $0.185 \pm 0.011$  menjadi  $0.176 \pm 0.021$  (Tabel 2). Sebanyak 13 responden (81.25%) mengalami penurunan nilai absorbansi TNF- $\alpha$ , sedangkan 3 responden (18.75%) mengalami peningkatan nilai absorbansi TNF- $\alpha$ . Penurunan nilai absorbansi TNF- $\alpha$  pada responden berkisar 2–18%, sedangkan peningkatan nilai absorbansi TNF- $\alpha$  pada responden berkisar 0.2–20%. Secara statistik penurunan tersebut signifikan ( $p < 0.05$ ). Hal ini menunjukkan pemberian minuman beroksigen secara rutin selama 21 hari mampu menurunkan nilai absorbansi TNF- $\alpha$  pada plasma darah responden PPOK.

Adanya peningkatan nilai absorbansi TNF- $\alpha$  pada responden diduga karena responden memiliki riwayat *hypertension heart disease* dan penyakit jantung. Menurut Granger (2006), terdapat hubungan antara hipertensi dengan peningkatan nilai absorbansi TNF- $\alpha$ , dimana sistem regulasi tekanan darah seperti sistem renin angiotensin dan sistem syaraf simpatetik dapat berinteraksi dengan TNF- $\alpha$ . Sistem syaraf simpatetik dapat merangsang pelepasan TNF- $\alpha$ . Selain itu angiotensin II juga dapat meningkatkan sintesis dari TNF- $\alpha$ .

Selain itu peningkatan nilai absorbansi TNF- $\alpha$  juga dapat disebabkan karena selama periode intervensi, beberapa responden terserang influenza. Menurut Seo dan Webster (2002), virus influenza mampu menginduksi ekspresi dari TNF- $\alpha$  pada manusia. Hal ini merupakan mekanisme pertahanan alami untuk melawan virus influenza. TNF- $\alpha$  memiliki peranan penting dalam melawan virus influenza sebelum respon imun sekunder teraktivasi.

#### Nilai absorbansi interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) adalah salah satu sitokin yang terlibat dalam sebuah proses inflamasi. Beberapa studi menunjukkan peningkatan ekspresi dari IL-1 $\beta$  pada penderita PPOK. Peningkatan level IL-1 $\beta$  pada penderita PPOK berhubungan dengan eksaserbasi dari penyakit tersebut (Mortaz *et al.* 2012).

Berdasarkan hasil analisis yang ditampilkan pada Gambar 2, umumnya nilai absorbansi IL-1 $\beta$  pada responden menurun setelah intervensi minuman beroksigen selama 21 hari. Secara rata-rata, penurunan nilai *optical density* IL-1 $\beta$  yaitu dari  $0.167 \pm 0.026$  menjadi  $0.148 \pm 0.016$  (Tabel 2).

Sebesar 12 responden (75%) mengalami penurunan nilai absorbansi IL-1 $\beta$ , sedangkan 4 responden (25%) mengalami

peningkatan rata-rata nilai absorbansi IL-1 $\beta$ . Penurunan nilai absorbansi IL-1 $\beta$  pada responden berkisar 0.8–49%, sedangkan peningkatan nilai absorbansi IL-1 $\beta$  berkisar 0.5–21%. Secara statistik penurunan tersebut signifikan pada tingkat kepercayaan 95% dengan nilai  $p < 0.05$ . Hal ini menunjukkan pemberian minuman beroksigen secara rutin selama 21 hari mampu menurunkan nilai absorbansi IL-1 $\beta$  pada plasma darah responden PPOK.

Peningkatan nilai absorbansi IL-1 $\beta$  pada responden diduga karena selama intervensi responden menderita influenza. Selain merangsang produksi TNF- $\alpha$ , virus influenza juga mampu membuat makrofag memicu produksi IL-1 $\beta$  (Seo dan Webster, 2002).

#### Nilai absorbansi interleukin 6 (IL-6)

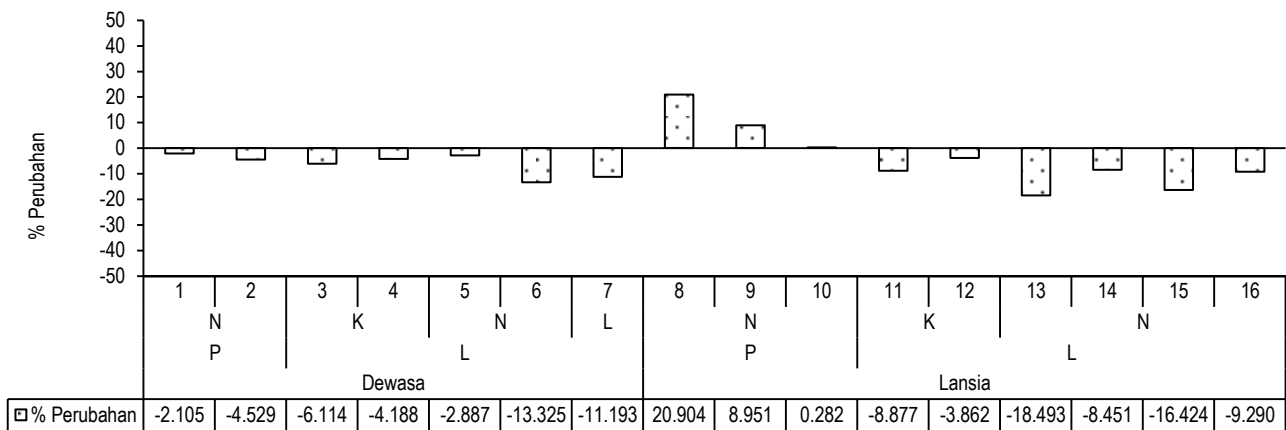
IL-6 merupakan jenis sitokin proinflamasi lain yang juga berperan sebagai mediator dalam terjadinya inflamasi. Sama halnya dengan TNF  $\alpha$  dan IL 1- $\beta$ , kadar IL-6 pada penderita PPOK juga umumnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan orang sehat. Penelitian Yanbaeva *et al.* (2009) menunjukkan kadar IL-6 pada penderita COPD lebih tinggi dibanding pada orang sehat mantan perokok. Berdasarkan hasil analisis yang ditampilkan pada Gambar 3, umumnya nilai absorbansi IL-6 pada responden menurun setelah intervensi minuman beroksigen selama 21 hari. Secara rata-rata, penurunan nilai *optical density* IL-6 yaitu dari  $0.228 \pm 0.035$  menjadi  $0.211 \pm 0.018$  (Tabel 2). Sebesar 10 responden (62.5%) mengalami penurunan nilai absorbansi IL-6, sedangkan 6 responden (37.5%) mengalami peningkatan rata-rata nilai absorbansi IL-6. Penurunan tersebut signifikan secara statistik ( $p < 0.05$ ). Hal ini menunjukkan pemberian minuman beroksigen secara rutin selama 21 hari mampu menurunkan nilai absorbansi IL-6 pada plasma darah responden PPOK.

Peningkatan IL-6 pada beberapa responden diduga karena responden tersebut memiliki riwayat *hypertension heart disease* dan penyakit jantung. Selain memicu produksi TNF- $\alpha$ , penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular seperti hipertensi dan penyakit jantung juga memicu produksi IL-6. Kedua sitokin tersebut mempengaruhi fungsi pembuluh darah dan endotelium dalam mengatur regulasi tekanan darah. Adanya kedua sitokin tersebut di dalam plasma berkorelasi dengan peningkatan tekanan darah (Granger, 2006).

Pada responden lain, peningkatan IL-6 diduga karena responden tersebut tergolong obesitas. Menurut Greenberg dan Obin (2006), ekspresi IL-6 cenderung meningkat pada kelompok obesitas. Jumlah ini akan lebih banyak terdapat pada jaringan lemak dibanding jaringan otot. Peningkatan jumlah IL-6 dapat dideteksi pada plasma.

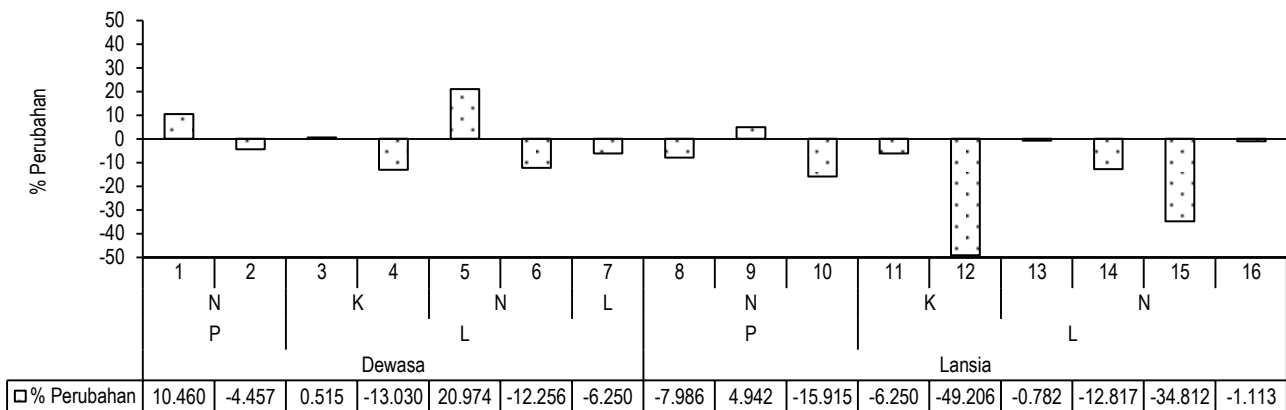
Tabel 2. Perbandingan nilai absorbansi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6 serta kadar kapasitas antioksidan total sebelum dan sesudah intervensi

Parameter Statistik	TNF- $\alpha$		IL-1 $\beta$		IL-6		TAC	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Rata-rata (n=16)	0.185	0.176	0.167	0.148	0.228	0.211	0.437 mM	0.463 mM
Standar deviasi	0.011	0.021	0.026	0.016	0.035	0.018	0.139	0.161
Uji t berpasangan	$p$ -value = 0.026		$p$ -value = 0.027		$p$ -value = 0.041		$p$ -value = 0.715	



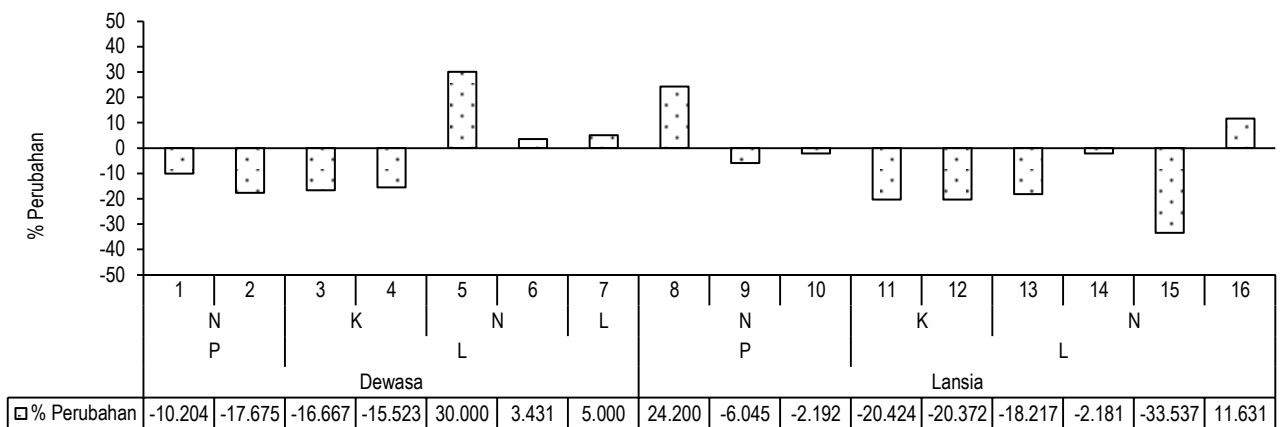
Keterangan: K = berat badan kurang, N = berat badan normal, L = berat badan lebih, L = laki-laki, P = perempuan

Gambar 1. Persentase perubahan nilai absorbansi TNF- $\alpha$  sesudah intervensi selama 21 hari



Keterangan: K = berat badan kurang, N = berat badan normal, L = berat badan lebih, L = laki-laki, P = perempuan

Gambar 2. Persentase perubahan nilai absorbansi IL-1 $\beta$  sesudah intervensi selama 21 hari



Keterangan: K = Berat badan kurang, N = Berat badan normal, L = berat badan lebih, L = laki-laki, P = perempuan

Gambar 3. Persentase perubahan nilai absorbansi IL-6 sesudah intervensi selama 21 hari

Berdasarkan penelitian ini, mayoritas responden mengalami penurunan nilai absorbansi sitokin proinflamasi baik TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6. Hal ini menunjukkan bahwa oksigen yang terdapat dalam minuman beroksigen mampu diserap oleh tubuh sebagaimana penelitian Forth dan Adam (2001) dan Nestle *et*

*al.* (2004), yang menyatakan bahwa minuman oksigen dengan konsentrasi 80 ppm mampu diserap oleh tubuh, sehingga meningkatkan tekanan oksigen di vena porta hati sebesar 10 mmHg. Selain itu, menurut penelitian Nestle *et al.* (2004), konsumsi minuman oksigen dengan konsentrasi tinggi mampu

meningkatkan ketersediaan oksigen di organ pencernaan. Setelah diserap di dalam sistem pencernaan, maka oksigen tersebut mampu memperbaiki sistem-sistem di dalam tubuh salah satunya sistem imun. Sehingga konsumsi minuman ber-oksigen secara rutin mampu memperbaiki keadaan inflamasi dan menurunkan nilai absorbansi sitokin proinflamasi TNF- $\alpha$ , IL 1- $\beta$ , dan IL-6 pada penderita PPOK.

**Kapasitas antioksidan total/total antioxidant capacity (TAC)**

Pada penderita PPOK, *reactive oxygen species* (ROS) dihasilkan dari leukosit di dalam darah maupun dari udara yang tercemar polutan seperti asap rokok, maupun gas-gas berbahaya yang bersal dari lingkungan yang tercemar. ROS ini akan ditangkap oleh sistem antioksidan di dalam tubuh. Adanya kerusakan sistem antioksidan yang disebabkan oleh ROS dapat dilihat dari kadar kapasitas antioksidan total yang dapat dianalisis dari plasma darah (Rahman *et al.* 2000).

Salah satu masalah yang dikhawatirkan dari pemberian oksigen berkonsentrasi tinggi adalah terbentuknya ROS yang tinggi. Umumnya kadar ROS pada penderita PPOK juga tinggi. Penelitian Rahman *et al.* (2000) menunjukkan kapasitas antioksidan total pada plasma penderita PPOK lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kapasitas antioksidan total pada subjek sehat perokok. Hal ini tentu saja menjadi sangat berbahaya apabila intervensi ini menimbulkan penurunan kapasitas antioksidan total pada penderita PPOK. Untuk itulah parameter kapasitas antioksidan total juga dianalisis untuk mengkaji pengaruh konsumsi minuman beroksigen dari segi keamanan terhadap antioksidan tubuh.

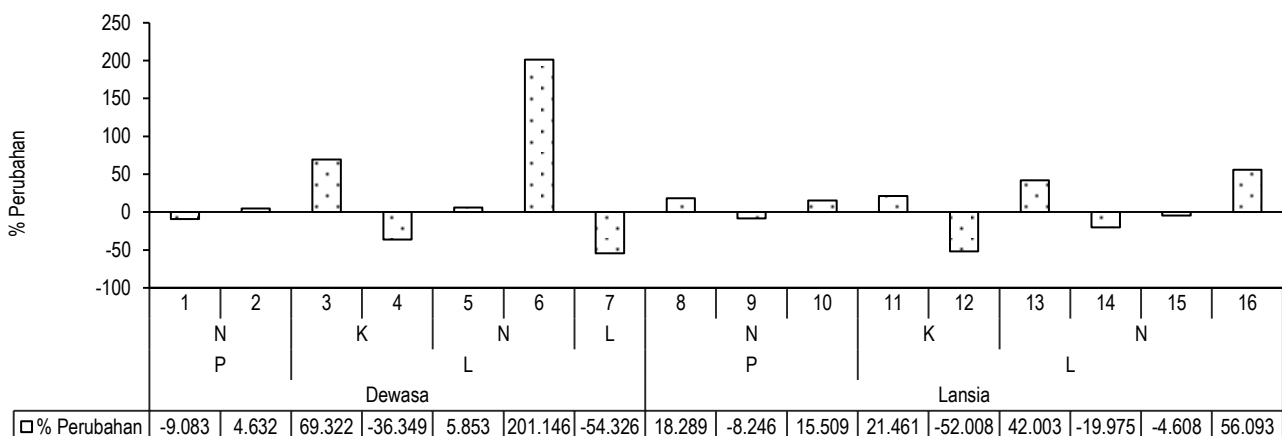
Berdasarkan hasil analisis yang terdapat Gambar 4, perbandingan antara responden yang mengalami penurunan dan peningkatan kadar kapasitas antioksidan total hampir sama yaitu 7 responden (43.75%) mengalami penurunan dan 9 responden (56.25%) mengalami peningkatan. Peningkatan kadar kapasitas antioksidan total pada responden berkisar 4.6-201%, sedangkan penurunan kadar kapasitas antioksidan total responden berkisar 4–54%. Secara rata-rata, perubahan kadar

kapasitas antioksidan total yaitu dari 0.437 $\pm$ 0.139 mM menjadi 0.463 $\pm$ 0.161 mM (Tabel 2).

Berdasarkan analisis statistik, pemberian minuman ber-oksigen tidak menurunkan kapasitas antioksidan total secara signifikan. Untuk itu maka perlu dikonfirmasi dari hasil *food recall* dan kebiasaan responden selama penelitian yang ditanyakan pada saat wawancara. Dari hasil *food recall* dan catatan hasil wawancara, maka diketahui bahwa responden yang mengalami penurunan kapasitas antioksidan total selama periode intervensi mengonsumsi obat-obatan, banyak mengonsumsi lauk yang digoreng dan daging sapi, dan kurang konsumsi sayur dan buah.

Konsumsi obat-obatan merupakan salah satu hal yang mempengaruhi kadar kapasitas antioksidan seseorang, karena untuk mendetoksifikasi obat-obatan tersebut dibutuhkan kerja dari enzim fase 1 dan enzim fase 2 yang melibatkan sistem antioksidan tubuh. Berdasarkan hasil wawancara, diketahui bahwa responden yang mengalami penurunan konsentrasi antioksidan total, mengonsumsi obat flu beberapa hari sebelum pengambilan darah tahap 2. Parasetamol merupakan komponen dari obat flu. Berdasarkan penelitian Srinivasaet *al.* (2010), tikus yang mengonsumsi parasetamol mengalami peningkatan kadar MDA, lipid dan peroksida serta mengalami penurunan kadar glutathion, katalase, dan total thiol, dimana glutathion dan katalase merupakan komponen-komponen dari sistem antioksidan endogenous (Ferrari, 2012).

Minimnya konsumsi sayur dan buah dapat menyebabkan turunnya kapasitas antioksidan total pada responden karena sayur dan buah merupakan sumber vitamin A, C dan E yang merupakan vitamin antioksidan yang mampu memperbaiki fungsi paru pada penderita PPOK, sehingga minimnya konsumsi sayuran dan buah-buahan dapat berkontribusi terhadap rendahnya kapasitas antioksidan total (Rahman *et al.* 2000). Penurunan konsentrasi kapasitas antioksidan total juga dialami pada responden yang banyak mengonsumsi makanan yang digoreng dan daging sapi pada saat periode intervensi. Makanan yang digoreng merupakan sumber asam lemak trans.



Keterangan: K = berat badan kurang, N = berat badan normal, L = berat badan lebih, L = laki-laki, P = perempuan

Gambar 4. Persentase perubahan kadar kapasitas antioksidan total sesudah intervensi selama 21 hari

Menurut Sartika (2011), konsumsi lemak trans yang berlebihan dapat menyebabkan peningkatan kolesterol LDL dan penurunan kolesterol HDL dalam darah. Sedangkan daging sapi merupakan makanan yang mengandung asam lemak jenuh yang tinggi, konsumsi asam lemak jenuh yang berlebihan juga berpotensi menyebabkan peningkatan kolesterol LDL. Kolesterol LDL yang teroksidasi dapat memicu terjadinya stres oksidatif dan berhubungan dengan konsentrasi kapasitas antioksidan total. Menurut penelitian Pitsavos *et al.* (2005), terdapat hubungan negatif antara konsentrasi kapasitas antioksidan total dengan konsentrasi kolesterol LDL yang teroksidasi.

## KESIMPULAN

Pemberian minuman beroksigen selama 21 hari mampu menurunkan nilai absorbansi sitokin proinflamasi berupa TNF  $\alpha$ , IL 1- $\beta$ , dan IL-6 secara signifikan pada penderita PPOK. Sebesar 81.25% responden mengalami penurunan nilai absorbansi TNF- $\alpha$  pada plasma, 75% responden mengalami penurunan nilai absorbansi IL-1 $\beta$  pada plasma, dan 62.5% responden mengalami penurunan nilai absorbansi IL-6 pada plasma. Setelah intervensi selama 21 hari, sebesar 43.75% responden mengalami penurunan kapasitas antioksidan total. Sedangkan sebesar 56.25% responden mengalami peningkatan kapasitas antioksidan total. Penurunan kadar kapasitas antioksidan total diduga disebabkan karena pola makan yang buruk seperti rendahnya konsumsi sayur dan buah serta tingginya konsumsi daging merah dan makanan yang digoreng. Selain itu konsumsi obat-obatan selama periode intervensi juga diduga menyebabkan turunnya kadar kapasitas antioksidan total pada responden.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh PT. Triusaha Mitraraharja (Garuda *food*) dan dapat terlaksana dengan bantuan dari Klinik dr. Katili, Dramaga dan Departemen Parasitologi Balai Besar Penelitian dan Veteriner, Bogor.

## DAFTAR PUSTAKA

- Crowther JR. 1995. ELISA: Theory and Practice. Humana Press, New Jersey.
- Ferrari CKB. 2012. Effects of xenobiotics on total antioxidant capacity. *Interdiscip Toxicol* 5: 117-122. DOI: 10.2478/v10102-012-0019-0.
- Forth W, Adam O. 2001. Uptake of oxygen from the intestine-experiments with rabbits. *Eur J med Res* 6: 488-492.
- Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. 2011. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (Revised 2011). Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Inc, Barcelona.
- Granger JP. 2006. An emerging role of inflammatory cytokines in hypertension. *Am J Physiol-Heart C* 290: H923-H924. DOI: 10.1152/ajpheart.01278.2005.
- Greenberg AS, Obin MS. 2006. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr* 83: 461S-465S.
- Gruber R, Axmann S, Shcoenberg MH. 2005. The influence of oxygenated water on the immune status, liver enzymes, and the generation of oxygen radicals: a prospective, randomised, blinded clinical study. *Clin Nutr* 24: 407-414.
- Handajani YS, Tenggara R, Suyatna FD, Surjadi C, Widjaja NT. 2009. The effect of oxygenated water in diabetes mellitus. *Med J Indones* 18: 102-107.
- Jung BG, Lee JA, Lee BJ. 2012. Oxygenated drinking water enhances immune activity in pigs and increases immune responses of pigs during *Salmonella* thyphimurium infection. *J Vet Med Sci* 74 12: 1651-1655. DOI: 10.1292/jvms.12-0051.
- Mortaz E, Adcock IM, Shafei H, Masjedi MR, Folkerts G. 2012. Role of P2X7 receptors in release of IL-1 $\beta$ : a possible mediator of pulmonary inflammation. *Tanaffos* 11: 6-11.
- Nestle N, Baumann T, Niessner R. 2003. Oxygen determination in oxygen-supersaturated drinking waters by NMR relaxometry. *Water Res* 37: 3361-3366.
- Nestle N, Wunderlich A, Nussle-Kugele K. 2004. In vitro observation of oxygen-supersaturated water in the human mouth and stomach. *Magn Reson Imaging* 22: 551-556. DOI: 10.1016/j.mri.2004.01.040.
- Perdani CG. 2012. Konsumsi Minyak Sawit Mentah Meningkatkan Kadar Retinol Plasma dan Menurunkan Aktivitas Enzim Penanda Kesehatan Hati pada Ibu Rumah Tangga di Kecamatan Dramaga Kabupaten Bogor. [Tesis]. Bogor: Fakultas Tekonologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, Stefanadis C. 2005. Adherence to the mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in health adults: The ATTICA study. *Am J Clin Nutr* 82: 694-696.
- Rahman I, Swarska E, Henry M, Stolk J, MacNee W. 2000. Is there any relationship between plasma antioxidant capacity and lung function in smokers and in patients with chronic obstructive pulmonary disease?. *Thorax* 55: 189-193.
- Sartika RAD. 2011. Effect of trans fatty acids intake on blood lipid profile of workers in east kalimantan, Indonesia. *Malaysian J Nutr* 17: 119-127.
- Sigma-Aldrich. 2012. Product Information: Antioxidant Assay Kit. Sigma-Aldrich.
- Speit G, Petra S, Kristina T, Andreas R. 2002. Oxygenated water does not induce genotoxic effects in the comet assay. *Toxicol Lett* 133: 203-210. DOI: 10.1016/S0378-4274(02)00153-4.
- Seo SH, Webster RG. 2002. Tumor necrosis factor alpha exerts powerful anti-influenza virus effects in lung epithelial cells. *J Virol* 76: 1071-1076.

- Sommer AM, Bogusch C, Lerchl A. 2007. Cognitive function in outbred house mice after 22 weeks of drinking oxygenated water. *Physiol Behav* 91: 173-179. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.02.007.
- Srinivasa B, Kumar A, Lakshman K, Narasimha K, Devangam J, Shekar S, Nandeesh R, Velmurugan C. 2010. Chemo-protective and antioxidant activities of methanolic extract of amaranthus spinosus leaves on paracetamol induced-liver damaged in rat. *Acta Med Saliniana* 39: 68-74. DOI: 10.5457/ams.159.10.
- Wing SL, Askew EW, Luetkemeier MJ, Ryujin DT, Kamimori GH, Grissom CK. 2003. Lack of effect of rhodiola or oxygenated water supplementation on hypoxemia and oxidative stress. *Wilderness Environ Med* 14: 9-16.
- Wing-Gaia SL, Subudhi AW, Askew EW. 2005. Effects of purified oxygenated water on exercise performance during acute hypoxic exposure. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 15: 680-688.
- [WHO] World Health Organization. 2006. BMI classification. [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html). [16 Juli 2013].
- [WHO] World Health Organization. 2012. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). <http://www.who.int/media/centre/factsheets/fs315/en/index.html>. [26 Desember 2012].
- Yanbaeva DG, Dentener MA, Spruit MA, Houwing-Duistermaat JJ, Kotz D, Passos VL, Wouters EFM. 2009. IL6 and CRP haplotypes are associated with COPD risk and systemic inflammation: a case-control study. *BMC Med Genet* 10: 1-11. DOI: 10.1186/1471-2350-10-23.