

PENUAAN & STRES OKSIDATIF

Nurina Tyagita, dr., M.Biomed.
Azizah Hikma Safitri, S.Si., M.Si
Eni Widayati, Dra, M.Si



FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

PENUAAN & STRES OKSIDATIF

PENUAAN & STRES OKSIDATIF

Nurina Tyagita, dr., M.Biomed.
Azizah Hikma Safitri, S.Si., M.Si
Eni Widayati, Dra, M.Si



FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

PENUAAN & STRES OKSIDATIF

PENULIS:

Nurina Tyagita, dr., M.Biomed.

Azizah Hikma Safitri, S.Si., M.Si

Eni Widayati, Dra, M.Si

Editor:

Nurina Tyagita, dr., M.Biomed.

Tata Letak dan Desain Sampul:

Thomas Sugeng Hariyoto

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung, Semarang

Hak Cipta © 2021, pada penulis

Hak publikasi pada Penerbit FK UNISSULA

Dilarang memperbanyak, memperbanyak sebagian atau seluruh isi dari buku ini dalam bentuk apapun, tanpa izin tertulis dari penerbit.

Cetakan Pertama

Tahun 2021

Penerbit

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

Jl. Raya Kaligawe km. 4 Semarang 50112 PO BOX 1054/SM,

Telp. (024) 6583584, Fax. (024) 6594366

ISBN 978-602-0744-96-4

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullah wabarakatuh,

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji bagi Allah, Robb seluruh alam yang telah memberikan karunia kepada penulis hingga dapat menyelesaikan hand out kuliah pakar Modul Siklus Kehidupan dengan judul Penuaan dan Stres oksidatif ini.

Pembuatan *hand out* kuliah pakar ini bertujuan untuk mempermudah mahasiswa dalam memahami topik kuliah “Penuaan dan Stres oksidatif” yang disajikan dalam modul Siklus Kehidupan. Sebagai seorang manusia biasa, dalam proses pembuatan *hand out* kuliah pakar ini pasti tak luput dari kesalahan penulis, oleh karena itu saran dan masukan dari pembaca masih diperlukan oleh penulis.

Terakhir, semoga *hand out* kuliah pakar ini dapat bermanfaat, dan membantu mahasiswa dalam pembelajaran modul siklus kehidupan.

Wassalamu'alaikum warahmatullah wabarakatuh

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. PENUAAN	5
BAB 3. STRES OKSIDATIF.....	15
BAB 4. PENUTUP.....	43
DAFTAR PUSTAKA	45

Pendahuluan

Penuaan merupakan suatu proses alamiah yang tidak terhindarkan dari kehidupan makhluk hidup, seringkali disertai penurunan kemampuan fisik dan mental individu secara perlahan (Poulose dan Raju, 2014). Beberapa teori bahkan menyebutkan penuaan merupakan suatu proses seleksi alam/*natural selection*. Individu yang mampu bertahan dari seleksi alam itulah yang akan bertahan hidup, dan mempunyai usia yang lebih lama dibandingkan individu yang tidak dapat melewati proses tersebut (Alvaro, 2003). Individu yang mempunyai usia lebih tua seringkali memiliki kemampuan fisiologi yang berkurang daripada individu yang masih muda, bahkan tidak sedikit yang menderita disabilitas. Individu yang menua mempunyai ciri penurunan fungsi biologis progresif, mengakibatkan penurunan kesehatan, peningkatan risiko menderita

penyakit degeneratif, sehingga meningkatkan risiko kematian (Mori, 2020). Penyakit degeneratif, seperti sindrom metabolik, diabetes melitus, hipertensi, dan kanker, menyebabkan seseorang tua lebih dini.

World Health Organization menyatakan jumlah penduduk dunia yang berusia lanjut akan meningkat dari 12% menjadi 22% pada tahun 2050. Bahkan pada tahun 2020, jumlah penduduk dunia berusia 60 tahun melebihi jumlah anak yang berusia kurang dari lima tahun (*World Health Organization*, 2018). Penuaan memang tidak selalu linier dengan usia biologis suatu makhluk hidup, namun tidak dipungkiri bahwa penambahan usia individu memengaruhi kemampuan fisiologis untuk bertahan hidup.

Keinginan manusia untuk dapat hidup lebih lama, bahkan untuk hidup abadi telah ada sejak lama. Gambaran manusia mengenai hidup immortal/abadi muncul sebagai dewa/dewi yang memiliki kekuatan tersendiri di banyak kebudayaan kuno dunia. Gaya hidup *centenarian* di pulau Okinawa, Jepang juga masih memiliki daya tarik para peneliti (*Okinawa Research Center for Longevity Science*, 2019; Goss, 2020). Pengetahuan mengenai mengapa kita menua, dan bagaimana kita menua menjadi topik yang menarik untuk

didiskusikan. Teori penuaan pun mengalami evolusi, dan pembahasan mengenai teori penuaan dapat dilihat dari berbagai aspek. Hand out kuliah pakar kali ini membatasi teori penuaan dipandang dari segi biologi saja. Salah satu teori penuaan yaitu stres oksidatif akan dibahas lebih mendalam. Bagaimana stres oksidatif dapat memengaruhi penuaan, dan penanda/biomarker apa saja yang dapat digunakan untuk mendeteksi stres oksidatif yang terjadi dalam tubuh.

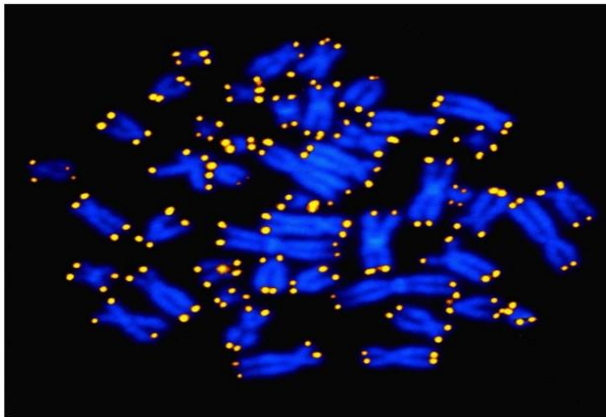
Penuaan

A. AGING THEORIES

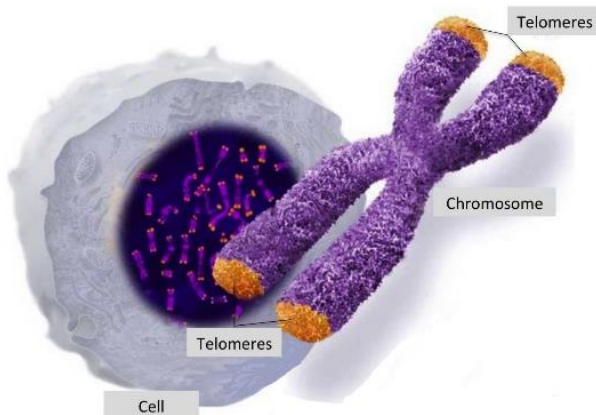
Tanda tanya mengenai penuaan diawali dengan dua pertanyaan besar: mengapa makhluk hidup menua? Serta, bagaimana makhluk hidup menua? Pertanyaan ini kemudian berkembang menjadi banyak sekali teori. *The hayflick limit theory*, adalah teori penuaan yang terkenal, dikemukakan oleh Dr. Hayflick pada tahun 1961. Teori ini menyebutkan bahwa kemampuan sel manusia untuk membelah diri adalah terbatas hanya sekitar 40-60 kali, dan setelah itu berhenti-tidak mampu membelah lagi (Alvaro, 2003).

Teori Hayflick ini dilanjutkan dengan teori lain yaitu Teori Telomere. Teori Telomere menyatakan bahwa di setiap pembelahan sel, telomere akan memendek, hingga pada saatnya tidak ada lagi telomere yang tersisa. Sel ovum dan sperma, menggunakan enzim telomerase dalam memperbaiki telomere, semata-mata untuk yang

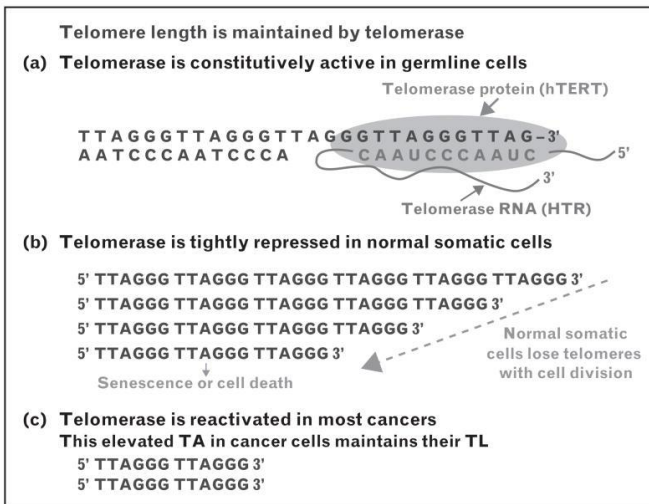
mempertahankan fungsi reproduksi dan kemampuan spesies mempertahankan eksistensi. Kemampuan sel ovum dan sperma tersebut tidak dimiliki oleh sel matur, sehingga telomere yang sudah mencapai *critical length* nya tidak dapat melanjutkan pembelahan diri, kemudian mati.



Blue: Chromosome; Yellow: Telomere



Gambar 1. Ilustrasi telomere (gambar dikutip dari (Tsoukalas, no date))



Gambar 2. Panjang telomer memengaruhi rentang hidup sel.

Copyright gambar Shamma, Masood A. "Telomeres, lifestyle, cancer, and aging." *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* vol. 14,1 (2011): 28-34. doi:10.1097/MCO.0b013e32834121b1 (Shamma, 2011)

Teori biologi modern mengenai penuaan pada manusia dapat dibagi menjadi dua kategori utama (Jin, 2010):

1. *The Programmed Theory*

Penuaan mengikuti jadwal biologis, kelanjutan dari jadwal biologis yang mengatur tumbuh kembang anak. Pengaturan ini tergantung dari perubahan ekspresi gen penanggung jawab system peneliharaan, perbaikan, dan sistem pertahanan

diri (Jin, 2010). Teori-teori penuaan yang termasuk dalam kategori ini antara lain:

a. *Programmed longevity*

Penuaan adalah hasil serangkaian proses “mengaktifkan-non aktifkan” gen tertentu.

b. *Endocrine theory*

Kerja jam biologis melalui hormon untuk mengendalikan laju kecepatan penuaan. *Insulin/Insulin-like growth factor (IGF)-1 signalling pathway* berperan penting mengatur hormon dalam proses penuaan.

c. *Immunological theory*

Sistem imun dirancang mengalami penurunan seiring bertambahnya usia, menjadikan individu lebih rentan mengalami infeksi, lalu menua, dan wafat.

2. *The Damage or Error Theory*

Perubahan lingkungan dapat mengganggu makhluk hidup dan menyebabkan akumulasi kerusakan berbagai tingkat yang berakibat penuaan. Adapun teori yang termasuk dalam kategori ini adalah:

a. *Wear and tear theory*

Tiga tahun sebelum Masehi, Aristoteles mengajukan suatu alasan yang dapat menyebabkan akselerasi penuaan, yaitu penggunaan energi (panas) untuk memelihara berbagai fungsi penting tubuh manusia adalah sesuatu hal yang potensial menimbulkan kerusakan/bersifat destruktif bagi tubuh. Alasan tersebut di kemudian hari dikenal dengan istilah “*wear and tear*”. Tubuh menua karena digunakan untuk menyokong berbagai fungsi tubuh (Mori, 2020).

b. Rate of living theory

Semakin besar laju metabolisme oksigen basal individu, semakin pendek rentang hidup individu tersebut.

c. Cross-linking theory

Seiring bertambah usia, protein, DNA, dan struktur molekul lain melekat pada tempat yang tidak seharusnya/*cross-link*. Ikatan yang salah ini menurunkan mobilitas atau elastisitas protein atau molekul. Lazimnya, protein yang rusak akan dipotong oleh enzim pemotong protein, protease. Namun keberadaan *cross-link* ini menurunkan

kemampuan kerja protease, sehingga protein yang rusak dan tak mampu bekerja ini akan menyebabkan akumulasi masalah baru yang berujung pada kematian sel.

d. *Free radical theory*

Radikal bebas, misal superoksida, merusak komponen makromolekular sel, sehingga sel berhenti berfungsi. Teori ini akan dijelaskan lebih dalam pada bab stres oksidatif.

e. *Somatic DNA damage theory*

Kerusakan DNA berlangsung terus menerus pada organisme hidup. Kebanyakan kerusakan dapat diperbaiki, baik oleh DNA polymerase atau mekanisme lain. Namun terdapat beberapa kerusakan yang gagal direparasi, dan kumpulan kerusakan yang gagal direparasi ini mengakibatkan mutasi genetik, yang berakibat kerusakan sel dan malfungsi sel. DNA mitokondria yang rusak memicu disfungsi mitokondria.

f. *Orgel's/error catastrophe theory*

Teori yang berasal dari ide Tn. Orgel, terjadi error/kesalahan pada proses transkripsi & translasi berujung pada error catastrophe

akibat fungsi protein yang mengalami error, serta berimbas pada kerusakan yang lain, meliputi kerusakan di DNA, protein dan metabolit (Gladyshev, 2014).

B. HALLMARK OF AGING

Konsep yang diajukan oleh Lopez-Otin *et al.*, (2013) dan López-Otín *et al.*, (2013). Sekumpulan tanda kekhususan/*hallmark* yang memenuhi kriteria:

- Harus nampak/terdapat pada proses *normal aging*
- *Experimental aggravation* terhadap *hallmark*, mempercepat penuaan
- *Experimental amelioration* terhadap *hallmark*, memperlambat proses penuaan normal, sehingga meningkatkan rentang hidup sehat (López-Otín *et al.*, 2013)



Gambar 3. *The Hallmark of Aging* (López-Otín et al., 2013)

Sembilan tanda yang menjadi kekhususan/*Hallmark of aging* (López-Otín et al., 2013):

1. *Genomic instability*

Tanda utama penuaan adalah akumulasi kerusakan genetik selama hidup. Integritas dan stabilitas DNA selalu ditantang oleh adanya agen fisika, kimia, biologi eksogen, ataupun ancaman endogen meliputi kesalahan replikasi DNA, reaksi hidrolitik spontan, dan *reactive oxygen species* (ROS).

2. *Telomere attrition*

Normal aging disertai dengan atrisi/penipisan telomere (aus) akibat proses replikasi berulang selama hidup.

3. *Epigenetic alteration*

Perubahan epigenetic, meliputi pola metilasi DNA, modifikasi histon *post* translasional, dan *remodelling* kromatin, memengaruhi sel dan jaringan sepanjang hidup.

4. *Loss of proteostasis*

Gangguan homeostasis protein/proteostasis (pelipatan protein selama protein sintesis).

5. *Deregulated nutrient sensing*

Aksis hormon insulin & *insulin-like growth factor 1/IGF1* merupakan jalur pengendali penuaan. Kalori restriksi memperpanjang rentang hidup, sebaliknya *over eating* mempercepat penuaan.

6. *Mitochondrial dysfunction*

Semakin tua, efektifitas rantai pernafasan semakin berkurang, sehingga meningkatkan kebocoran elektron, penurunan produksi ATP, dan peningkatan

produksi ROS. Kondisi ini semakin menyebabkan kemunduran fungsi mitokondrial dan kerusakan selular menyeluruh.

7. *Cellular senescence*

Senescence adalah kondisi/proses penurunan fungsi dengan penambahan usia. Sel mengalami *arrest*/berhenti membelah, disertai perubahan fenotipe yang menunjukkan kemunduran.

8. *Stem cell exhaustion*

Hematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells, sel satelit, dan *intestinal epithelial stem cells* mengalami kelelahan, sehingga tak mampu lagi mengganti sel yang sudah rusak.

9. *Altered intercellular communication*

Komunikasi interseluler, seperti neuroendokrin, sistem imun, dan sitokin inflamasi terganggu.

Stres Oksidatif

A. RADIKAL BEBAS

Molekul yang bersifat sangat reaktif di dalam tubuh meliputi *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) (Rahman *et al.*, 2012). Radikal bebas, superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^-), hydrogen peroksida (H_2O_2), dan oksigen singlet (1O_2), lazim dikenal sebagai *reactive oxygen species* (ROS), merupakan produk sampingan sistem biologi (Pizzino *et al.*, 2017). Radikal bebas adalah atom yang sangat reaktif, dan memiliki satu atau lebih electron yang tidak berpasangan, dan dihasilkan di dalam sel melalui donasi electron atau menjadi akseptor electron (Russo *et al.*, 2012).

Tabel 1. Radikal bebas dalam tubuh (Rahman *et al.*, 2012)

Reactive Oxygen Species (ROS)	Reactive Nitrogen Species (RNS)
Superoksida (O ₂ ⁻)	<i>Nitric oxide</i> (NO ⁻)
Hidroksil (OH ⁻)	<i>Nitrous acid</i> (HNO ₂)
Peroksil (RO ₂ ⁻)	
Alkoxyyl (RO ⁻)	
Hidroperoksil (HO ₂ ⁻)	

Radikal bebas dapat dibedakan dari asal sumbernya (Phaniendra, Jestadi dan Periyasamy, 2015):

- Endogen: Hampir seluruh ROS intraseluler berasal dari mitokondria, ada juga yang berasal dari peroksisom (Rahman *et al.*, 2012), retikulum endoplasma, sel fagosit. Atau dapat terbentuk pada aktivasi sel imun, inflamasi, iskemia, infeksi, kanker, *excessive exercise*, mental stres, *aging*.
- Eksogen: terpapar polutan lingkungan, obat-obatan, penggunaan bahan kimia, rokok, alkohol, radiasi.

Tabel 2. ROS, sumber, dan kerusakan yang diakibatkan (Rahman *et al.*, 2012)

Jenis ROS	Sumber	Kerusakan
<i>Hydrogen peroxide</i> (H ₂ O ₂)	Dismutase oleh SOD	•O ₂ ⁻ Kerusakan membran
<i>Organic hydroperoxide</i> (ROOH)	Reaksi dengan komponen seluler	radikal Peroksidasi lipid & DNA
<i>Hydroxyl radical</i> (•OH)	Reaksi Fenton	Menyerang dan merusak hampir seluruh komponen seluler

Jenis ROS	Sumber	Kerusakan
<i>Superoxide ion</i> ($\bullet\text{O}_2^-$)	Reaksi auto oksidasi dan oleh <i>electron transport system</i>	Melepaskan Fe^{2+} dari protein sulfur besi dan ferritin Prekursor Fe dikatalisir pembentukan $\bullet\text{OH}$

Tubuh memerlukan ROS dalam kadar yang rendah, karena ROS bermanfaat untuk proses apoptosis, fagositosis, imunitas. *Nitric oxide/NO*, salah satu *reactive nitrogen species/RNS*, berperan sebagai *cell-to-cell messenger*, diperlukan untuk modulasi aliran darah, terlibat pada proses thrombosis, dan krusial untuk aktivitas sistem saraf yang normal (Pizzino *et al.*, 2017).

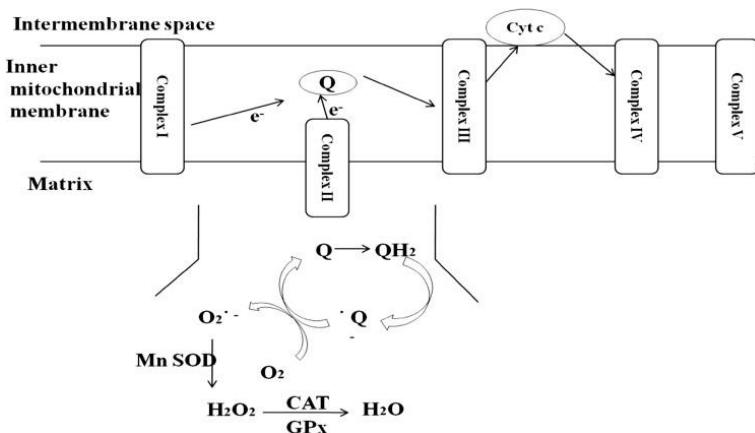
Produksi ROS yang berlebihan memiliki efek yang merugikan bagi tubuh, karena dapat merusak struktur makromolekuler sel utama, mulai dari lapisan terluar, yaitu membrane sel lipid bilayer, protein sel, hingga ke DNA sel.

Pembentukan radikal superoksida

Radikal superoksida diproduksi pada 2 kompleks utama rantai pernafasan, yaitu: kompleks I (*NADH dehydrogenase*) dan kompleks III (*ubiquinone cytochrome c reductase*), dengan mekanisme sebagai berikut (skema pada Gambar 4):

- Transfer elektron dari kompleks I atau II menuju koenzym Q atau ubiquinone (Q) menghasilkan coenzyme Q tereduksi (QH₂).
- QH₂ tereduksi membentuk koenzym Q lagi melalui senyawa intermediate semiquinone anion ($\cdot\text{Q}^-$) pada siklus Q.
- $\cdot\text{Q}^-$ yang terbentuk segera memindahkan electron menuju oksigen molecular sehingga terbentuk radikal superoksida.

Pembentukan radikal superoksida tidak melibatkan kerja enzim, sehingga semakin besar laju metabolisme, semakin banyak produksi ROS (Phaniendra, Jestadi dan Periyasamy, 2015).



Gambar 4. Pembentukan ROS di mitokondria (Phaniendra, Jestadi dan Periyasamy, 2015)

B. ANTIOKSIDAN

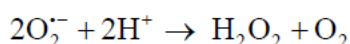
Tubuh mempunyai sistem pertahanan yang melindungi dari toksisitas radikal bebas, yaitu pertahanan antioksidan. Antioksidan dibagi menjadi 2 kategori (Russo *et al.*, 2012):

1. Endogen, meliputi:

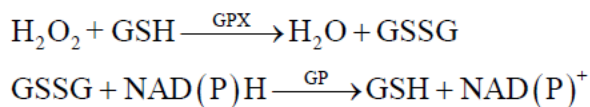
a. Jalur enzimatik

Enzim yang berperan sebagai antioksidan primer adalah: 1). Superoksida dismutase (SOD). 2). Katalase (CAT), dan 3). Glutathione peroksidase (GPx).

Anion superoksida dinetralkan menjadi hydrogen peroksida oleh SOD mitokondria, menggunakan reaksi berikut:



sedangkan hidrogen peroksida didetoksifikasi oleh CAT dan GPx (Phaniendra, Jestadi dan Periyasamy, 2015).



b. Jalur non enzimatik

Molekul yang berinteraksi dengan ROS dan mampu mengakhiri reaksi radikal bebas. Molekul yang dimaksud adalah: thiol (Elsayed Azab *et al.*, 2019), bilirubin, α -tokoferol (vitamin E), dan β -karoten (Russo *et al.*, 2012). Allantoin juga berperan sebagai powerful antioxidant dan scavenger bagi ROS/RNS di sitosol dan ruang ekstraseluler (Czerska *et al.*, 2015).

2. Eksogen, suplementasi antioksidan dari luar, misal:

- Asam askorbat (vitamin C): berfungsi menangkap (*scavenge*) anion hidroksil dan superoksida
- α -tokoferol (vitamin E): berperan menangkal peroksidasi lipid membrane sel
- Antioksidan fenolik, termasuk derivate stilbene (resveratrol, asam fenolik, dan flavonoid), minyak lesitin, selenium, zinc (Russo *et al.*, 2012). Bahan alam, seperti okra (*Abelmoschus esculentus*), dan masih banyak bahan alam lainnya, mengandung antioksidan jenis ini.

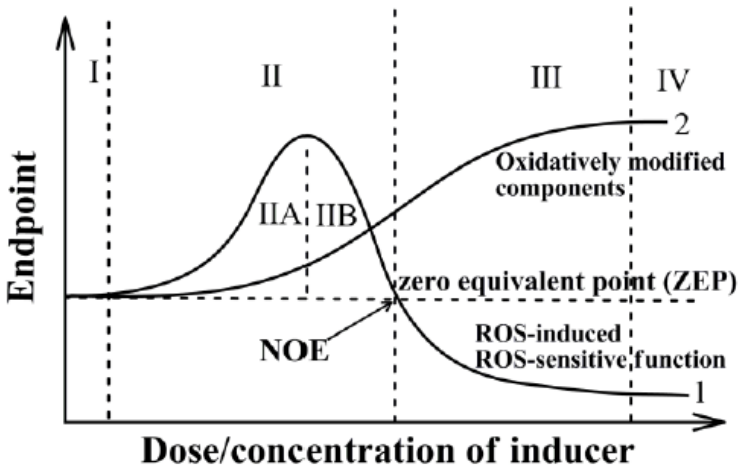
C. STRES OKSIDATIF DAN MACAMNYA

Istilah stres oksidatif pertama kali dikemukakan Denham Harman, sekitar 35 tahun yang lalu. Konsep stres oksidatif saat itu berkaitan dengan toksisitas oksigen, seringkali dihubungkan dengan masalah penuaan, metabolisme oksigen dan radikal lain, dan kajian mengenai ketidakseimbangan reaksi reduksi-oksidasi (redoks) pada sel dan organisme (Breitenbach dan Eckl, 2015). Definisi stres oksidatif menurut Luschak adalah suatu keadaan stabil dengan konsentrasi ROS yang meningkat (baik sementara atau kronis), mengganggu metabolisme seluler dan pengaturannya, berakibat kerusakan pada kerusakan seluler (VI, 2014). Stres oksidatif mencerminkan ketidakseimbangan produksi dan akumulasi radikal bebas dengan system penetralnya, yaitu antioksidan (Pizzino *et al.*, 2017). Ketidakseimbangan ini dapat terjadi karena produksi radikal bebas yang berlebihan, atau penurunan kadar/kemampuan antioksidan dalam bekerja menangkap (*scavenge*) radikal bebas yang berkeliaran (Czerska *et al.*, 2015).

Stres oksidatif digolongkan berdasar intensitas hubungan antara dosis *inducer* stres dan hasil (*endpoint*) yang dapat diukur, missal produksi hidrogen peroksida,

aktivitas enzim antioksidan, atau kemampuan bertahan hidup sel. Klasifikasi yang dimaksud adalah sebagai berikut (Lushchak, 2014):

1. *Basal oxidative stress* (BOS):
Tidak didapatkan efek yang dapat diamati akibat stres oksidatif dengan intensitas sangat rendah
2. *Low intensity oxidative stress* (LOS)
Didapatkan sedikit peningkatan molekul yang termodifikasi oleh stres oksidatif level ringan, disertai dengan peningkatan aktivitas enzim antioksidan. Level ini menunjukkan kemampuan sel untuk *survive*/bertahan hidup, antara lain melalui adanya *upregulation* enzim antioksidan. Hubungan antara oksidan dan endpoint pada tahap ini disebut *hormesis*.
3. *Intermediate intensity oxidative stress* (IOS)
4. *High intensity oxidative stress* (HOS)
Peningkatan sangat banyak kadar molekul yang termodifikasi, dan penurunan aktifitas enzim antioksidan



Gambar 5. Hubungan dosis inducer stres oksidatif dengan endpoint parameter yang diukur (Lushchak, 2014)

D. PEMICU STRES OKSIDATIF

Beberapa kondisi metabolik, baik yang fisiologis ataupun patologis dapat memicu timbulnya stres oksidatif:

- FISIOLOGIS

- Peningkatan aktivitas otot saat olahraga, atau olahraga saat sel mengalami hipoksia menyebabkan stres oksidatif pada otot. Aktivitas antioksidan enzimatis meningkat pada kondisi ini, memengaruhi ekspresi gen pada otot, berakibat terjadinya adaptasi otot

terhadap beban baru, serta memiliki manfaat kesehatan dari berolahraga (Breitenbach dan Eckl, 2015).

- Hipoksia yang terjadi pada metabolisme sel lemak, juga menyebabkan stres oksidatif oksidatif, yang justru mempunyai efek menguntungkan dalam “*counteract*” resistensi insulin pada diabetes mellitus tipe 2 (Breitenbach dan Eckl, 2015).
- Sel yang terinfeksi bakteri mengalami inflamasi dan stres oksidatif, dari proses fagositosis yang dilakukan oleh makrofag dan monosit. sebagai bagian dari sistem imun innate. Stres oksidatif juga terlibat pada proses *extracellular DNA traps* untuk membantu mengeliminasi bakteri (Breitenbach dan Eckl, 2015).
- Radikal bebas juga diproduksi oleh isoform NADPH oksidase non fagositik, berperan dalam kaskade signalling sel fibroblast, endotel, sel otot polos, sel otot jantung, dan jaringan tiroid. *Nitric Oxide/NO* misalnya, adalah *messenger cell-to-cell* yang diperlukan

untuk modulasi aliran darah (Pizzino *et al.*, 2017).

○ PATOLOGIS

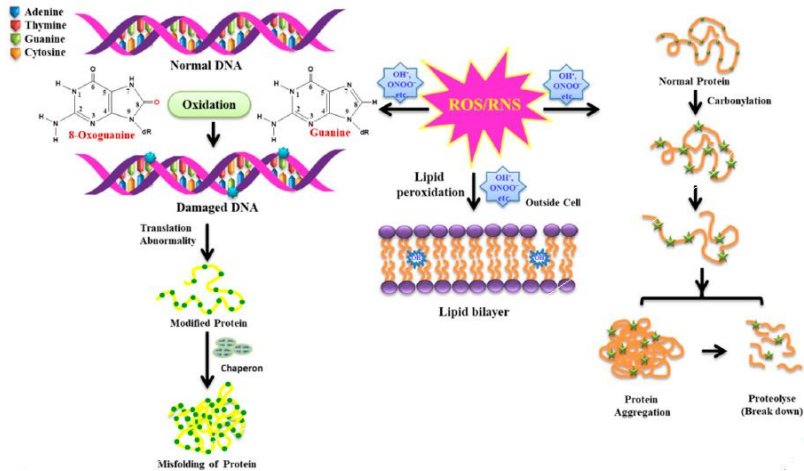
Extrinsic skin ageing sangat dipengaruhi oleh stressor eksternal dan factor lingkungan, seperti radiasi sinar ultraviolet (UV), polusi, gaya hidup merokok. Kombinasi stressor eksternal dan faktor lingkungan merangsang produksi ROS dan mengakibatkan stres oksidatif. Kerusakan oksidatif dari sumber luar ini kemudian merusak struktur dan fungsi kulit, menghasilkan fenotip kulit yang menua yaitu keriput yang dalam, permukaan kulit yang kasar, teleangiectasia dan warna kulit tidak merata (Naidoo dan Birch-Machin, 2017).

Obat tertentu yang bersifat nefrotoksik, seperti siklosporin, tacrolimus, gentamisin, bleomisin, meningkatkan radikal bebas dan stres oksidatif melalui proses peroksidasi lipid. Logam berat (Cd, Hg, Pb, dan As), dan logam transisi (Fe, Cu, Co, dan Cr) merupakan inducer stres oksidatif (Pizzino *et al.*, 2017).

E. STRES OKSIDATIF DAN PENUAAN

The free radical theory of aging, dikenal juga dengan *the oxidative stress theory of aging*, yang dicetuskan oleh Denham Harman ini, dianggap merupakan teori aging yang paling konsisten (Lushchak, 2014). Teori ini menyatakan kerusakan struktural yang berkaitan dengan penurunan fungsi akibat usia, diakibatkan akumulasi kerusakan oksidatif pada makromolekul (lemak, protein, dan DNA) oleh radikal bebas/ROS/RNS (Russo *et al.*, 2012). Radikal hidroksil dan peroksinitrit menyebabkan peroksidasi lipid, merusak membran sel dan lipoprotein, malondialdehid (MDA) dan diena terkonjugasi, bersifat sitotoksik dan mutagenik, terbentuk. Peroksidasi lipid ini meluas sangat cepat, sehingga memengaruhi molekul lipid lain. Protein pun tidak lepas dari kerusakan yang diakibatkan oleh stres oksidatif, yaitu terjadi modifikasi struktur yang dapat mengganggu atau menghilangkan aktivitas enzimatisnya. Struktur *deoxyriboic nucleic acid* (DNA) juga sangat berisiko menderita stres oksidatif, yaitu melalui pembentukan *8-oxo-2-deoxyguanosine* (8-OHdG), bertanggungjawab terhadap kejadian mutagenesis seperti yang dijelaskan pada gambar 6 (Singh *et al.*, 2019). Stres oksidatif jika tidak dikendalikan akan menimbulkan

beberapa penyakit kronik, degeneratif, termasuk dapat mempercepat proses penuaan (Pizzino *et al.*, 2017).



Gambar 6. Mekanisme kerusakan struktur makromolekul akibat ROS/RNS (Singh *et al.*, 2019)

Teori radikal bebas mengalami evolusi, hingga kini ditemukan bahwa radikal bebas menginduksi terjadinya mutasi DNA mitokondria (mtDNA) secara acak (*random de novo*) dan akumulasi delesi mtDNA. mtDNA merupakan tempat berlangsungnya fosforilasi oksidatif/*electron transport chain*, yang merupakan produsen utama radikal bebas. Mutasi pada mtDNA mengakibatkan disfungsi mitokondria, semakin meningkatkan produksi radikal bebas (Ziada, Smith dan Côté, 2020), dan kerusakan yang lebih luas pun terjadi.

Stres oksidatif berperan pada pathogenesis penyakit degeneratif, antara lain kanker, penyakit kardiovaskular, penyakit neurologi, diabetes mellitus tipe 2, hipertensi, sindroma metabolic, aterosklerosis. Alzheimer, katarak dan lain sebagainya. Penurunan fungsi mitokondrial akibat *aging* menyebabkan jantung, paru, hati, dan ginjal lebih rentan mengalami iskemia/*reperfusion injury* (Poulose dan Raju, 2014).

Jantung

Penurunan fungsi mitokondria jantung dan peningkatan kerusakan oksidatif menjadi penyebab penurunan performa jantung yang menua. Perubahan signifikan fungsi diastolik ventrikel kiri akibat penuaan, memicu munculnya penyakit jantung seperti penyakit jantung iskemia, dan gagal jantung kongestif. Reperfusi jaringan akan dialami oleh jantung yang menderita iskemia, sebagai upaya untuk mengembalikan fungsi jantung. Reperfusi jantung meningkatkan kadar *4-hidroxy-2-nonenal* (HNE), produk peroksidasi lipid, menginaktifkan *alpha-ketoglutarat dehydrogenase*, enzim kunci pada siklus Krebs, sehingga menghambat rantai pernafasan di mitokondria, dan menimbulkan

stres oksidatif yang lebih tinggi di mitondria (Poulose dan Raju, 2014).

✚ Hati

Hati merupakan organ yang bersifat sangat aerobic/membutuhkan oksigen, sehingga sangat rentan terhadap stress akibat hipoksia/iskemia.

✚ Kanker

Kerusakan oksidatif pada DNA bertanggungjawab pada perkembangan kanker. Abnormalitas kromosom dan aktivasi onkogen, yang mendorong terjadinya kanker, disebabkan oleh stres oksidatif. Stres oksidatif juga mampu memodifikasi struktur DNA, pada gugus basa dan gulanya, DNA-protein crosslinks, pemisahan untaian rantai helix DNA, dan situs bebas basa (Pizzino *et al.*, 2017).

✚ Penyakit Kardiovaskular

Gaya hidup yang merugikan, seperti diet yang tidak seimbang, kebiasaan merokok, gaya hidup sedenter, diabetes, hipertensi, hiperkolesterolemia, berperan dalam kejadian stres oksidatif, dan menjadi faktor risiko menderita penyakit kardiovaskular. Stres oksidatif adalah pemicu kejadian aterosklerosis.

Inflamasi kronis pada endotel pembuluh darah, menyebabkan pembentukan ROS oleh makrofag. LDL yang bersirkulasi kemudian teroksidasi oleh ROS, dan terbentuklah sel busa serta akumulasi lemak pada daerah lesi yang disebut plak aterosklerotik. Penelitian *in vivo* dan *ex vivo* menyatakan stres oksidatif berperan dalam aterosklerosis, iskemia, hipertensi, kardiomiopati, hipertrofi kardiak, dan gagal jantung kongestif (Pizzino *et al.*, 2017).

✚ Penyakit Neurologi

Stres oksidatif memegang peran penting dalam *neuron loss* dan perkembangan dementia. Peptide toksik, β -amiloid yang sering ditemukan pada kasus Alzheimer, merupakan produk radikal bebas (Pizzino *et al.*, 2017).

✚ Penyakit Saluran Pernafasan

Inflamasi kronis local dan sistemik saluran pernafasan, contoh pada asma dan penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), berkaitan dengan stres oksidatif. Oksidan memperburuk inflamasi yang sudah terjadi melalui aktivasi jalur kinase dan transcription factor, NF- κ B, dan AP-1(Pizzino *et al.*, 2017).

✚ Rheumatoid Arthritis

Inflamasi kronis yang terjadi pada sendi dan jaringan sekitarnya, melibatkan makrofag dan sel T. Radikal bebas pada lokasi inflamasi akan mengakibatkan peningkatan kadar isoprostane dan prostaglandin cairan synovial pasien Rheumatoid arthritis (Pizzino *et al.*, 2017).

F. PENANDA STRES OKSIDATIF

Beberapa marker *aging*, terutama pada *metabolic sensing*, seperti pada sirtuin/SIRT-1, *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator*/PGC-1 α , *hypoxia inducible factor*/HIF-1 α , dan regulator gen pengatur proses transkripsi, c-MYC, menjadi kunci utama proses pemeliharaan integritas struktur, biogenesis dan fungsi mitokondria (Poulose dan Raju, 2014).

Sel leukosit memproduksi ROS dan RNS pada beberapa kondisi fisiologis, seperti pada inflamasi, untuk kemudian menjadi NOX dan iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*), dan menjadi bagian dari *innate immune system*. Selain itu, ROS dan RNS dapat menginduksi peroksidasi lipid dari *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) membran sel seperti sudah dijelaskan sebelumnya. Sindrom metabolik, dan inflamasi kronis yang terjadi, misal pada obesitas,

oxidized LDL (oxLDL) mengaktifkan leukosit dan platelet/trombosit untuk kemudian memproduksi ROS dan RNS. Pengukuran ROS/RNS secara langsung berguna untuk mencerminkan proses patologis yang sedang terjadi. Biomarker yang dapat digunakan pada leukosit diukur secara kuantitatif menggunakan *flow cytometry* seperti tercantum pada tabel berikut (Marrocco, Altieri dan Peluso, 2017).

Tabel 3. Probe yang digunakan untuk pengukuran ROS & RNS pada leukosit menggunakan *flow cytometry* (Marrocco, Altieri dan Peluso, 2017)

Probe (localization)	ROS/RNS	Fluorescence	Leukocytes	Platelets	Limitations and confoundings
DCFH-DA (intracellular)	HO* ONOO ⁻ ROO* NO ₂ * Indirect H ₂ O ₂	↑ green (DCF)	Yes	Yes	Hemolysis Self-propagation of DCF radicals MDR substrates or inducers Esterase inhibitors Plasma esterase in whole blood or PRP EDTA and citrate Antioxidants
DAF-2 DA/DAF-FM DA (intracellular)	NO*	↑ green (DAF-Ts)	Yes	No	MDR substrates or inducers Esterase inhibitors Plasma esterase in whole blood
DHR123 (intracellular)	HClO H ₂ O ₂ ONOO ⁻	↑ green (Rho123)	Yes	No	Self-propagation of DHR radicals MDR substrates or inducers Antioxidants
HE (intracellular)	O ₂ *	↑ red (ethidium)	Yes	No	Intercalating agents
C11-BODIPY ^{581/591} (membrane)	HO* ROO*	Shift from red to green	Yes	Yes	Hemolysis Antioxidants

Kemampuan ROS memodifikasi biomolekul tubuh, seperti protein, lipid, karbohidrat, asam nukleat, dan senyawa metabolit lainnya, menyebabkan perlunya modifikasi untuk menilai kejadian stres oksidatif, tidak hanya menggunakan satu penanda/parameter saja. Beberapa parameter yang digunakan berasal dari produk

hasil modifikasi radikal bebas terhadap biomolekul tubuh (VI, 2014):

❖ Lipid:

(1) *malondialdehyde* (MDA) yang berasal dari proses peroksidasi lipid membrane sel, lazimnya diukur menggunakan metode *Thiobarbituric reactive substances assay*/TBARS

(2) 4-hydroxy-2-nonenal (HNE)

❖ Protein: pembentukan gugus protein karbonil, diukur menggunakan spektrofotometer

❖ DNA: pembentukan 8-oxoguanine, atau 8-hydroxyguanine (8-OHG), 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG), atau 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoGua), diukur menggunakan ELISA

Biomarker lain dirangkumkan dalam Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Biomarker stres oksidatif dari modifikasi molekul oleh ROS (Marrocco, Altieri dan Peluso, 2017)

Markers	Methods	Limitations and confoundings
<i>Lipid oxidation</i>		
HNE	HPLC, GC-MS Immunoassay	
MDA, alkenals, alkadienals	Spectrophotometric/fluorimetric (TBARS), HPLC (UV or fluorescence) Immunoassay	Sugars, amino acids, bilirubin and albumin, hemolysis
F2-IsoPs	Gas/liquid chromatography coupled with mass spectroscopy techniques Immunoassay	Hemolysis Antibody specificity
<i>DNA oxidation</i>		
8oxodG, 5-chlorocytosine, 5-chlorouracil, edA, edC	ELISA assays, HPLC-ECD, HPLC/GC-MS	Antibody specificity
<i>Protein oxidation</i>		
ALEs, AGEs	HPLC, Western blot after one-dimensional or two-dimensional electrophoretic separation, immunohistochemistry, ELISA	Structural heterogeneity of these products Antibody specificity
Carbonyls	Spectrophotometric, HPLC, ELISA	
3-NO-Tyr	HPLC/GC-MS, ELISA	Possible nitration of tyrosine residues in the sample by the presence of nitrite and the acid conditions during protein precipitation and hydrolysis Antibody specificity
AOPP	MS, colorimetric assays	
oxLDL	Immunodetection (ELISA)	Antibody specificity
IMA	ABC test, immunodetection (ELISA)	Sensitive to pH changes, temperature, and time of sample storage Antibody specificity

Allantoin adalah biomarker lain yang dapat digunakan untuk pengukuran stres oksidatif. Allantoin, diukur dari urin, merupakan end-product oksidasi non enzimatik asam urat, yang tidak dipengaruhi oleh kadar asam urat tubuh (Czerska *et al.*, 2015). Pengukuran proteomic proses redox pada stres oksidatif, serta enzim antioksidan juga dapat dilakukan.

Tabel 5. Biomarker proteomic redox, dan enzim antioksidan beserta metode pengukuran (Marrocco, Altieri dan Peluso, 2017)

<i>Reversible cysteine modifications</i>	<i>Methods</i>	<i>Limitations and confoundings</i>
S-glutathionylation GSH/GSSG SH	MS, ELISA, WB Spectrofotometric	For an accurate quantification, a specialized instrumentation is required
<i>ROS-regulated transcription factors</i>	<i>Methods</i>	<i>Limitations and confoundings</i>
Nrf-2, NF-κB	Immunological techniques, RT-PCR	
<i>ROS-generating enzymes</i>	<i>Methods</i>	<i>Limitations and confoundings</i>
NOX, MPO, XO, NOS	Immunological techniques, WB, PCR, RT-PCR, enzymatic	Antibody specificity Different percentages of leukocytes' populations
<i>Antioxidant enzymes</i>	<i>Methods</i>	<i>Limitations and confoundings</i>
SOD, CAT, GPX, GR	Immunological techniques WB, PCR, RT-PCR, enzymatic	Antibody specificity Different percentages of leukocytes' populations

G. UPAYA MEMINIMALKAN STRES OKSIDATIF

Manusia menempuh banyak cara dalam upayanya memperoleh usia yang panjang namun tetap sehat, antara lain dengan meminimalkan kejadian stres oksidatif dalam tubuh. Stres oksidatif terutama dihasilkan dari proses metabolisme tubuh, sehingga upaya mengurangi kerja metabolisme sel seperti restriksi kalori, dapat mengurangi produk samping rantai pernafasan dalam menghasilkan energi, yaitu radikal bebas. Pengendalian terhadap faktor lingkungan dan stressor eksternal juga hal yang penting dilakukan untuk menekan stres oksidatif. Konsumsi antioksidan tambahan dari luar, baik berasal dari suplemen, ataupun penggunaan bahan alam yang memiliki properti antioksidan juga sering dilakukan.

❖ Restriksi Kalori

Penelitian mengenai kalori restriksi dapat menghambat proses penuaan sudah banyak sekali dilakukan. Beberapa jalur yang dapat menjelaskan alasan kalori restriksi dapat menunda penuaan adalah sebagai berikut (Mori, 2020):

1. Jalur *nutrient-sensing* (dimediasi oleh mTOR, GCN2, dan kinase AMPK)
2. Jalur hormon dan pertumbuhan (contoh: Insulin-like growth factor/IGF-1, dan Growth hormone/GH)
3. Jalur pengendali keseimbangan redoks dan fungsi mitokondria (molekul pro-oksidan dan antioksidan, jalur *stress-response* seperti autofagi atau respon unfolding protein)
4. Jalur pengendali siklus sel, kematian sel, dan *senescence* (dimediasi oleh telomerase, p53, p16)
5. Perubahan epigenetik (modifikasi histon, metilasi, *silencing non-coding RNA*)

Penelitian mengenai praktek berpuasa yang disertai dengan restriksi kalori, pengurangan sebesar 30% total kalori harian pada tikus, menunjukkan kadar *malondialdehyde* (MDA), produk peroksidasi lipid akibat stres oksidatif, yang lebih rendah dibandingkan yang tidak menjalani restriksi kalori (Tyagita, Nasihun dan Sumarawati, 2016). Studi lain yang dilakukan bagian biokimia FK UNISSULA tahun 2017 juga menemukan bahwa pengurangan kalori sebesar 30% juga memperbaiki 8-oxodG, biomarker kerusakan DNA akibat stres oksidatif, serta memperbaiki biomarker inflamasi, dan metabolik lainnya (hasil riset belum dipublikasikan secara luas).

❖ Penggunaan bahan alam

Sejak awal peradaban manusia, penggunaan bahan alam sebagai unsur pemeliharaan kesehatan sudah dilakukan. Konsumsi jamu, terutama oleh masyarakat pulau Jawa, sudah masyhur dilakukan sejak dahulu kala, dan salah satu tujuannya adalah membuat tampilan yang awet muda dan fit. Tiap bahan alam memiliki properti antioksidan yang berbeda, sehingga dapat digunakan untuk mengurangi stres oksidatif dalam tubuh. Bahan alam yang

mengandung antioksidan dan sudah diteliti di bagian Biokimia FK UNISSULA adalah sebagai berikut:

1. Purwoceng

Radiasi yang diakibatkan oleh ultraviolet/UV A, B, dan C menyebabkan pembentukan radikal bebas, sehingga menimbulkan stres oksidatif. Pemberian purwoceng (*Pimpinella almonella* Molk) secara oral pada tikus yang diradiasi sinar UV, terbukti memiliki kadar MDA dan 8-OHdG yang lebih rendah dibandingkan kelompok yang tidak diberi purwoceng. *Total antioxidant capacity/TAC* dan kadar GPx tikus yang diberi purwoceng jauh lebih baik dibanding yang tidak. Flavonoid yang terkandung dalam purwoceng mampu menekan stres oksidatif yang terjadi akibat radiasi sinar UV (Nasihun dan Widayati, 2016).

2. Okra (*Abelmoschus esculentus*)

Tanaman dari family Malvaceae, mempunyai senyawa yang dapat bekerja sebagai antioksidan. Penggunaan air

rendaman okra hijau pada tikus model diabetes mellitus tipe 2, dapat meningkatkan kadar antioksidan enzimatis, superoksida dismutase/SOD (Tyagita *et al.*, 2019).

Bagian Biokimia FK UNISSULA juga meneliti bubuk okra ungu yang diberikan pada tikus model sindroma metabolik juga terbukti melemahkan proses stres oksidatif, yang ditandai dengan penurunan kadar MDA, serta penurunan biomarker inflamasi, yaitu *C-reactive protein/CRP* (data belum dipublikasikan).

Okra mengandung *quercetin*, antioksidan poten, yang dapat berperan sebagai SOD *enhancer*, serta menghambat pembentukan radikal bebas. *Quercetin* juga meningkatkan kapasitas total antioksidan, menurunkan kadar oksidan tubuh, sehingga stres oksidatif bisa diturunkan. *Myricetin*, dan asam askorbat dalam okra juga mempunyai peran tersendiri. Asam askorbat bekerja dengan *quenching* radikal bebas ke bentuk yang kurang reaktif, sehingga dapat meningkatkan kadar SOD. *Myricetin* jika digabung dengan

asam askorbat dapat menurunkan stres oksidatif dan meningkatkan antioksidan endogen (Tyagita *et al.*, 2019).

3. Porang (*Amorpophalus muelleri* Blume)

Porang merupakan tanaman umbi-umbian *indigenous* asli Indonesia. Sifat bubuk porang jika dicampur air, akan berbentuk seperti gel *viscous fiber*. Pemberian bubuk porang pada tikus model sindrom metabolik (SM) yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan tinggi karbohidrat menunjukkan perbaikan pada profil lipid (total kolesterol, LDL, HDL, dan trigliserida) (Safitri, Tyagita, dan Nasihun, 2017).

Porang mengandung glukomanan, suatu bentuk *soluble dietary fiber*. Studi yang dilakukan oleh bagian Biokimia FK UNISSULA, pemberian glukomanan porang dengan dosis 100mg/200g BB tikus pada tikus model SM (tahun 2018) tersebut mampu menurunkan kadar MDA, dan sebaliknya mampu meningkatkan kadar antioksidan enzimatis, glutathione peroksidase (GPx) (data hasil riset belum dipublikasikan).

Penelitian mengenai pengaruh pemberian glukomanan porang pada tikus modul DM2 juga dilakukan oleh bagian Biokimia FK UNISSULA pada tahun 2020. Kadar *glucagon-like peptide*/GLP-1 pada tikus model DM2 lebih baik jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Prebiotik glukomanan dapat merangsang sel L untuk memproduksi *glucose-like peptide-1* (GLP-1) yang dapat menstimulasi pertumbuhan sel β postprandial, regenerasi dan prevensi sel β dari apoptosis sehingga dapat mengurangi kadar glukosa darah dan HbA1c yang tinggi. Kadar glukosa darah yang dipertahankan dalam rentang normal akan menekan produksi ROS, sehingga stres oksidatif juga dapat dihambat.

Penutup

Pengetahuan mengenai mengapa dan bagaimana makhluk hidup dapat menua, tidak serta merta membuat manusia menjadi hidup abadi. Demikian juga dengan pemahaman mengenai stres oksidatif dan apa saja akibat yang ditimbulkan terhadap tubuh. Upaya yang dapat dilakukan untuk dapat mencegah atau paling tidak meminimalkan proses stres oksidatif, membuat sel tubuh menjadi lebih awet, tidak mudah rusak atau bahkan mengalami mutasi. Sel tubuh yang bekerja dengan baik, menyebabkan organ dapat berfungsi secara normal, dan tubuh pun dapat mempertahankan homeostasis, sehingga tujuan mencegah proses penuaan supaya kualitas hidup baik dalam waktu yang sangat lama dapat tercapai. Perubahan gaya hidup, serta suplementasi bahan alam yang mengandung flavonoid atau antioksidan lain dapat diadopsi dalam rangka mencapai tujuan tersebut.

Daftar Pustaka

- Alvaro, M.-C. (2003) 'Biology of aging,' *Progress in molecular and subcellular biology*, 30. doi: 10.1007/978-3-642-18994-4.
- Breitenbach, M. and Eckl, P. (2015) 'Introduction to oxidative stress in biomedical and biological research', *Biomolecules*, 5(2), pp. 1169–1177. doi: 10.3390/biom5021169.
- Czerska, M. *et al.* (2015) 'Today's Oxidative Stress Markers', *Medycyna Pracy*, 66(3), pp. 393–405. doi: 10.13075/mp.5893.00137.
- Elsayed Azab, A. *et al.* (2019) 'Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body', *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1), pp. 43–47. doi: 10.15406/jabb.2019.06.00173.
- Gladyshev, V. N. (2014) 'The free radical theory of aging is dead. Long live the damage theory!', *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(4), pp. 727–731. doi: 10.1089/ars.2013.5228.
- Goss, R. (2020) *This island unlocked the secret to long life—and*

- knows how to get through tough times*. Available at: <https://www.nationalgeographic.com/travel/article/uncover-the-secrets-of-longevity-in-this-japanese-village> (Accessed: 8 September 2021).
- Jin, K. (2010) 'Modern Biological Theories of Aging', *Aging and Disease*, 1(2), p. 72. Available at: </pmc/articles/PMC2995895/> (Accessed: 8 September 2021).
- López-Otín, C. *et al.* (2013) 'The hallmarks of aging', *Cell*, 153(6), p. 1194. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
- Lushchak, V. I. (2014) 'Classification of oxidative stress based on its intensity', *EXCLI Journal*, 13, pp. 922-937. doi: 10.17877/DE290R-7035.
- Marrocco, I., Altieri, F. and Peluso, I. (2017) 'Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. doi: 10.1155/2017/6501046.
- Mori, M. A. (2020) 'Aging: A new perspective on an old issue', *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 92(2), pp. 1-14. doi: 10.1590/0001-3765202020200437.
- Naidoo, K. and Birch-Machin, M. A. (2017) 'Oxidative stress and ageing: The influence of environmental pollution, sunlight and diet on skin', *Cosmetics*, 4(1). doi: 10.3390/cosmetics4010004.
- Nasihun, T. and Widayati, E. (2016) 'Administration of Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molck) improves oxidative

- stress following UVC irradiation in Spargue-Dawley male rats', *Journal of Natural Remedies*, 16(3), pp. 115–124. doi: 10.18311/jnr/2016/7684.
- Okinawa Research Center for Longevity Science (2019) *Okinawa Research Center for Longevity Sciences*. Available at: <https://orcls.org/> (Accessed: 8 September 2021).
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015) 'Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), p. 11. doi: 10.1007/S12291-014-0446-0.
- Pizzino, G. *et al.* (2017) 'Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. doi: 10.1155/2017/8416763.
- Poulose, N. and Raju, R. (2014) 'Aging and Injury: Alterations in Cellular Energetics and Organ Function', *Aging and Disease*, 5(2), p. 101. doi: 10.14336/AD.2014.0500101.
- Rahman, T. *et al.* (2012) 'Oxidative stress and human health', *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 03(07), pp. 997–1019. doi: 10.4236/abb.2012.327123.
- Russo, G. *et al.* (2012) 'Oxidative Stress and Diseases', *Oxidative Stress and Diseases*, pp. 757–772. doi: 10.5772/2535.
- Safitri, A. H., Tyagita, N. and Nasihun, T. (2017) 'Porang glucomannan supplementation improves lipid profile in metabolic syndrome induced rats', *Journal of Natural Remedies*, 17(4). doi: 10.18311/jnr/2017/18125.

- Shammas, M. A. (2011) 'Telomeres, lifestyle, cancer, and aging', *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 14(1), p. 28. doi: 10.1097/MCO.0B013E32834121B1.
- Singh, A. *et al.* (2019) 'Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases', *Molecules*, 24(8), pp. 1–20. doi: 10.3390/molecules24081583.
- Tsoukalas, D. (no date) *Telomere Analysis*. Available at: https://www.metabolomicmedicine.com/english/telomere_analysis-na-192.html (Accessed: 8 September 2021).
- Tyagita, N. *et al.* (2019) 'Okra infusion water improving stress oxidative and inflammatory markers on hyperglycemic rats', *Bangladesh Journal of Medical Science*, 18(4), pp. 748–752. doi: 10.3329/bjms.v18i4.42879.
- Tyagita, N., Nasihun, T. and Sumarawati, T. (2016) 'Good fasting Practice on Malondialdehyde and 8-Hydroxydeoxyguanosine (ahead of publication)', *doi.org*, 4(3), pp. 102–107. doi: 10.22038/jfh.2016.7788.
- VI, L. (2014) 'Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification', *Chemico-biological interactions*, 224, pp. 164–175. doi: 10.1016/J.CBI.2014.10.016.
- World Health Organization (2018) *Ageing and health*. Available at: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/ageing-and-health> (Accessed: 8 September 2021).
- Ziada, A. S., Smith, M. S. R. and Côté, H. C. F. (2020) 'Updating

the Free Radical Theory of Aging', *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(September), pp. 1–5. doi: 10.3389/fcell.2020.575645.



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

Jl. Raya Kaligawe km. 4 Semarang 50112 PO BOX 1054/SM,
Telp. (024) 6583584, Fax. (024) 6594366

ISBN 978-602-0744-96-4

