

# PERAN ANTIOKSIDAN VITAMIN C PADA KEADAAN STRES OKSIDATIF DAN HUBUNGAN DENGAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA) DI DALAM TUBUH

Tengku Muhammad Fauzi

Dosen Tetap Fakultas Kedokteran Methodist Indonesia

e-mail: zifirstfauzi@gmail.com

## ABSTRAK

*Paparan senyawa radikal bebas dapat memicu keadaan stres oksidatif yang berdampak pada perubahan struktur sel di dalam tubuh, terutama rusaknya permeabilitas membran sel ditandai dengan terjadinya peroksidasi lipid. Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk peroksidasi lipid. MDA dapat diukur dengan menggunakan uji TBARS, menghasilkan kromatofor berwarna merah muda yang dapat dibaca pada panjang gelombang 530 nm. Dari hasil studi menunjukkan peningkatan kadar MDA di tubuh yang terjadi akibat keadaan stres oksidatif dapat diturunkan dengan pemberian Vitamin C sebagai antioksidan. Hasil ini menunjukkan Vitamin C yang dapat diperoleh dari berbagai sumber makanan, seperti buah-buahan sangat dianjurkan untuk dikonsumsi dengan manfaatnya melindungi atau menetralkan paparan senyawa radikal yang diperoleh dari luar tubuh maupun dalam tubuh sendiri.*

**Kata Kunci :** Malondialdehid, Vitamin C, ROS

## 1. PENDAHULUAN

Di dalam tubuh, sel secara rutin menghasilkan radikal bebas dan kelompok oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*) yang merupakan bagian dari proses metabolisme. Pada saat produksi radikal bebas melebihi antioksidan pertahanan seluler maka dapat terjadi stres oksidatif. Berbagai stressor baik yang berupa agen fisik (radiasi sinar rontgen dan ultraviolet), kadar oksigen nonfisiologik (hipoksia dan hiperoksia), obat, polutan, senyawa kimia, dan penuaan, dapat menyebabkan gangguan homeostasis sel atau stimulasi terhadap pertumbuhan, pertahanan hidup, dan signaling sel (Afanas'ev, 2010 ; Rocha, *et.al* 2010). Gangguan homeostasis atau stimulasi terhadap pertumbuhan, signaling, dan survival sel dimediasi oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang diproduksi oleh sel sebagai respon terhadap stressor (Izyumov, *et.al* 2010).

Di dalam sistem biokimia terdapat keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan, sehingga jaringan tubuh terhindar dari kerusakan akibat ROS (Makker, *et.al* 2009 ; Rachman, 2012 ). Ketika terjadi peningkatan kadar ROS, tubuh akan merespon dengan

memproduksi enzim CAT, HPx, dan SOD untuk menetralkan ROS. Namun demikian tetap ada sebagian ROS yang masih tersisa, terutama bila produksi ROS berlebihan. Untuk meredakan ROS yang masih tersisa perlu disediakan anti oksidan tambahan seperti vitamin C untuk meminimalisir efek ROS tersebut (Rachman, 2012 ; Bender, 2009 ; Kefer, *et.al* 2009 ; Milzcarek, *et.al* 2009).

Berdasarkan informasi di atas penulis tertarik untuk membahas peran Vitamin C pada keadaan stres oksidatif dan hubungan dengan kadar MDA di dalam tubuh. Sumber tulisan ini diperoleh dengan studi literatur dari berbagai macam buku dan jurnal dengan kata kunci : Vitamin C, Malondialdehid (MDA), dan Stres Oksidatif.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### Radikal Bebas

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu molekul, atom, atau beberapa atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga bersifat sangat reaktif. Suatu molekul bersifat stabil bila elektronnya berpasangan, tetapi bila tidak berpasangan (*single*) molekul tersebut menjadi tidak stabil dan memiliki potensi untuk merusak.

Bila molekul tidak stabil ini mengambil satu elektron dari senyawa lain maka molekul tersebut menjadi stabil sedangkan molekul yang diambil elektronnya menjadi tidak stabil berubah menjadi radikal dan memicu reaksi pembentukan radikal bebas berikutnya (reaksi berantai) tersebut (Yuniastuti 2008).

Menurut (Yuniastuti 2008), Radikal bebas bersumber dari berbagai hal, antara lain: radiasi sinar X dan sinar ultraviolet, polusi udara akibat asap kendaraan bermotor, gas buang dari pabrik, atau asap rokok. Beberapa kondisi juga bisa memicu terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh, misalnya stress, sakit, olah raga berlebihan dan lain-lain. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada sel karena dapat menimbulkan kerusakan pada protein, (aktivitas enzim terganggu) dan asam nukleat (kerusakan DNA, mutasi sel). Sebagai akibatnya, pertumbuhan dan perkembangan sel menjadi tidak wajar, bahkan dapat menyebabkan kematian sel (Yuniastuti 2008).

Radikal dalam tubuh berasal dari dalam (endogen) atau dari luar tubuh (eksogen). Secara endogen, radikal bebas terbentuk sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh. Secara alamiah radikal bebas dibentuk dalam tubuh makhluk hidup termasuk manusia, binatang dan tumbuhan. Dalam kondisi normal jumlah radikal tersebut berada dalam keseimbangan atau terkendali. Sumber radikal bebas endogen tersebut berasal dari proses otooksidasi, oksidasi enzimatik, *respiratory burst*, reaksi yang dikatalisis ion logam transisi, dan *ischemia reperfusion injury* (Khachik, 2002).

Radikal terpenting yang terdapat dalam tubuh merupakan derivat oksigen atau oksi-radikal yang sering disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal tersebut terdapat dalam bentuk *singlet oxygen* ( $^1O_2^*$ ), anion superoksida ( $O_2^*$ ), radikal hidroksil ( $OH^*$ ), nitrogen oksida ( $NO^*$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), asam hipoklor ( $HOCl$ ), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), radikal alkoksil ( $LO_2^*$ ) dan radikal peroksil ( $LO_2^*$ ) (Halliwell, Gutteridge 1999).

Berbagai jenis *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam tubuh diperlihatkan pada Tabel 1, dari tabel tersebut terlihat bahwa diantara

berbagai ROS terdapat molekul yang bukan radikal bebas, yaitu  $^1O_2$  dan  $H_2O_2$ , namun karena sifatnya yang sangat reaktif maka dimasukkan ke dalam kelompok ini (Muchtadi, 2009).

Tabel 1 Jenis-jenis *Reactive Oxygen Species* (ROS)

ROS	Keterangan
Anion superoksida $O_2^*$	Tidak terlalu merusak, tetapi dapat membentuk hidrogen peroksida, yang merupakan reduktan logam transisi dalam pembentukan radikal
Radikal hidroksil $OH^*$	Hidroksil Radikal pengoksidasi yang sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan hampir seluruh Biomolekul
Radikal peroksil $LO_2^*$	Dihasilkan antara lain pada proses peroksidasi Lipid
Hydrogen peroksida $H_2O_2$	Hidrogen peroksida bukan radikal bebas tetapi dikategorikan sebagai ROS. Molekul ini merupakan sumber radikal hidroksil dalam kondisi jenuh ion logam transisi, juga terlibat dalam pembentukan $HOCl$
Oksigen singlet $^1O_2$	Meskipun bukan radikal bebas, tetapi merupakan pengoksidasi yang kuat.
Nitrogen oksida $NO^*$	Radikal bebas dalam bentuk gas Terbentuk dari reaksi $NO^*$ dengan $O_2^*$
Peroksinitrit $ONOO^-$	Dihasilkan oleh netrofil pada proses inflamasi
Asam hipoklor $HOCl$	terbentuk dari $H_2O_2$ dan $Cl^-$ yang dikatalisis oleh mieloperoksidase.

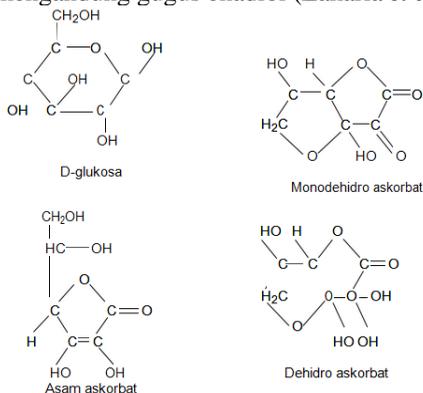
Secara eksogen, radikal bebas diperoleh dari bermacam-macam sumber antara lain polutan, makanan dan minuman, radiasi, ozon dan pestisida. Radikal bebas diproduksi di dalam sel oleh mitokondria, lisosom, peroksisom, endoplasmic reticulum dan inti sel. (Muchtadi, 2009). Sekitar 90% pencemar udara terdiri atas karbon monoksida, nitrogen oksida, sulfur oksida, dan hidrokarbon (Kurnani, 2001).

Secara umum, menurut Winarsi (2011), tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui tiga tahapan reaksi sebagai berikut:

- Tahapan inisiasi, yaitu tahapan pembentukan radikal bebas.
- Tahapan propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal.
- Tahapan terminasi, yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkapan radikal, sehingga potensi propagasinya rendah.

### Vitamin C (Asam Askorbat)

Vitamin C adalah vitamin larut air yang tidak disimpan oleh tubuh, diekresikan melalui urine. Dalam keadaan murni vitamin C berbentuk kristal putih dengan berat molekul 176,13 dan rumus molekul  $C_6H_8O_6$ , vitamin C juga mudah teroksidasi secara reversibel membentuk asam dehidro-L askorbat dan kehilangan 2 atom hidrogen. Vitamin C memiliki struktur yang mirip dengan struktur monosakarida, tetapi mengandung gugus enadiol (Zakaria *et al* 1996).



Gambar 1. Struktur asam askorbat dan metabolitnya.

Vitamin C terdapat dalam dua bentuk di alam, yaitu L-asam askorbat (bentuk tereduksi) dan L-asam dehidro askorbat (bentuk teroksidasi). Oksidasi bolak-balik L-asam askorbat menjadi L-asam dehidro askorbat terjadi bila bersentuhan dengan Cu, panas atau alkali. Kedua bentuk vitamin C aktif secara biologik tetapi bentuk tereduksi adalah yang paling aktif (Combs dalam Sareharto 2010).

Menurut Muchtadi (2009) isomer-L. Isomer ini memiliki aktivitas lebih besar di bandingkan

dengan bentuk isomer D. Aktivitas vitamin C bentuk D hanya 10% dari aktivitas isomer L.

Vitamin C adalah vitamin yang penting dalam diet manusia. Vitamin ini banyak ditemukan dalam jaringan tanaman, Daun-daunan hijau mengandung vitamin C dalam jumlah yang sama dengan yang dikandung klorofil.

Takaran yang dianjurkan untuk konsumsi vitamin C adalah; anak-anak: 30-45 mg/hari, wanita dewasa: 60 mg/hari, pria dewasa: 60 mg/hari. Pada RDA (*Recommended Dietary Allowances*), maka anjuran konsumsi vitamin C adalah 60-100 mg/hari. Sementara untuk pengobatan dosisnya bisa mencapai 1000-2000 mg/hari (Winarti 2010).

Perencanaan dosis vitamin C berdasarkan Tolerable Upper Intake Levels (ULs) atau angka tertinggi dari nilai zat gizi yang bila dikonsumsi tiap hari tidak membahayakan kesehatan untuk dewasa  $\geq 19$  tahun menurut *food and nutrition Board-institute of Medicine (FNB-IOM)* (2004) adalah 2000 mg/hari, pada asupan normal dapat diabsorpsi sebesar 90-95%, asupan lebih dari 60 mg akan meningkatkan ekskresi bentuk vitamin C secara proporsional (WNPG 2004). Tubuh dapat menyimpan hingga 1500 mg vitamin C bila konsumsi mencapai 100 mg sehari (Almatsier 2004).

### 3. PEMBAHASAN

#### Peroksida Lipid

Peroksida lipid terbentuk sebagai hasil reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak tidak jenuh (PUFA = *Poly Unsaturated Fatty Acid*) yang merupakan unsur utama dari membran sel. Proses peroksida lipid umumnya dimulai dengan penarikan atom hidrogen yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap PUFA membentuk radikal lipid. Penambahan oksigen akan menyebabkan terbentuknya radikal peroksil lipid yang selanjutnya akan menarik lagi atom hidrogen dari ikatan rangkap PUFA yang lain, sehingga terbentuk radikal lipid berikutnya. Sedangkan radikal peroksil lipid tersebut akan mengalami dekomposisi menjadi peroksida lipid. Peroksida lipid bersifat tidak stabil dan akan terurai menghasilkan sejumlah senyawa, antara lain MDA (Pendit, 1996).

Oksidasi lipid terjadi melalui tiga tahapan, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Reaksi inisiasi terjadi di antara asam lemak tidak jenuh dengan radikal hidroksil membentuk radikal karbon. Selanjutnya radikal karbon yang terbentuk akan beresonansi dengan elektron yang tidak berpasangan membentuk biradikal yang memiliki 2 elektron yang tidak berpasangan. Reaksi ini terus berlanjut hingga senyawa radikal siap bereaksi dengan senyawa lainnya, sehingga terbentuk radikal peroksil yang memiliki 1 atom H yang berasal dari asam lemak yang terbentuk dari lipid hidroperoksida, dengan melepaskan radikal bebas lainnya untuk berpartisipasi dalam atom H berikutnya. Radikal hidroksil akan menginisiasi reaksi peroksidasi atom H tunggal, kemudian berubah menjadi produk radikal karbon (R) yang dapat bereaksi dengan atom oksigen. Radikal hidroksil juga mengawali reaktivitasnya dalam senyawa lipid (Winarsi 2011).

Kadar peroksida lipid dapat digunakan sebagai indikator terjadinya stres oksidatif pada jaringan. Hasil peroksida lipid dapat diperiksa dengan berbagai cara, antara lain dengan pembentukan konjugat MDA dengan asam tiobarbiturat (Winarsi 2011).

### Malondialdehid (MDA)

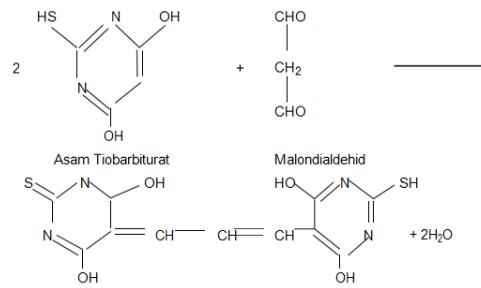
Menurut Pryor *et al* dalam Winarsi (2011), MDA adalah senyawa aldehida yang merupakan produk akhir peroksida lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul  $C_3H_4O_2$ . MDA juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentose dan heksosa. Selain itu, MDA juga merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk sampah biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir oksidasi lipid membran.<sup>14</sup>

Menurut Halliwell dan Gutteridge (1999), MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas. Di samping itu, MDA juga merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Status antioksidan

yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA.

Pengukuran MDA mudah dilakukan baik secara spektrofotometrik atau fluorimetrik. Karena MDA tidak stabil maka cara penyimpanan sampel harus terlindung dari cahaya, dan bila tidak segera diperiksa harus disimpan pada suhu  $-70^{\circ}C$ . Penyimpanan  $-20^{\circ}C$  tidak memadai (Mates,2000).

Uji TBARs (*thiobarbituric acid reactive substances*), merupakan salah satu uji yang paling lama dan paling sering digunakan untuk mengukur proses peroksidasi lipid asam lemak tidak jenuh. Uji TBARs dapat menilai stress oksidatif berdasarkan reaksi asam tiobarbiturat dengan malondialdehid (MDA). Supernatan plasma (setelah protein diendapkan) direaksikan dengan asam tiobarbiturat menghasilkan kromofor berwarna merah muda yang dibaca pada panjang gelombang 530nm (Gambar 2). Hasilnya dibandingkan dengan kurva standar memakai tetraetoksipropan (Jusman,1995).



Produk berwarna merah muda

Gambar 2. Reaksi malondialdehid dengan asam tiobarbiturat.

Sumber : Halliwell dan Gutteridge 1994

### Vitamin C sebagai Antioksidan

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*). Senyawa ini, menurut Zakaria *et al* (1996), merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel (Zakaria *et al* 1996).

Sebagai antioksidan, vitamin C bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam Tembaga. Selain itu, vitamin C juga dapat

menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler. Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif di dalam sel netrofil, monosit, protein lensa dan retina. Vitamin ini juga dapat bereaksi dengan Fe-ferritin. Di luar sel, vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi, mentransfer elektron ke dalam tokoferol teroksidasi, dan mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan (Levine, *et.al* 1995).

Vitamin C mampu mereduksi radikal superoksida, hidroksil, asam hipoklorida, dan oksigen reaktif yang berasal dari netrofil dan monosit yang teraktivasi. Antioksidan vitamin C mampu bereaksi dengan radikal bebas, kemudian mengubahnya menjadi radikal askorbil. Senyawa radikal terakhir ini akan segera berubah menjadi askorbat dan dehidroaskorbat. Asam askorbat dapat bereaksi dengan oksigen teraktivasi, seperti anion superoksida dan radikal hidroksil. Pada konsentrasi rendah, vitamin C bereaksi dengan radikal hidroksil menjadi askorbil yang sedikit reaktif, sementara pada kadar tinggi, asam ini tidak akan bereaksi (Zakaria, *et. al* 1996).

Askorbat berperan sebagai reduktor untuk berbagai radikal bebas. Selain itu juga meminimalkan terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh stress oksidatif. Gambar 2 menunjukkan beberapa bentuk struktur asam askorbat dan metabolitnya. Askorbat dapat langsung menangkap radikal bebas oksigen, baik dengan atau tanpa katalisator enzim. Secara tidak langsung, askorbat dapat meredam aktivitasnya dengan cara mengubah tokoferol menjadi tereduksi. Reaksinya terhadap senyawa oksigen reaktif lebih cepat dibandingkan dengan komponen cair lainnya. Askorbat juga melindungi makromolekul penting dari kerusakan oksidatif. Reaksinya terhadap radikal hidroksil terbatas hanya melalui proses difusi (Winarsi, 2011).

Sebagai antioksidan, askorbat akan bereaksi dengan radikal superoksida, hidrogen peroksida, maupun radikal tokoferol membentuk asam monodehidro askorbat dan atau asam dehidroaskorbat reduktase, yang ekuivalen dengan NADPH atau glutathion tereduksi.

Dehidroaskorbat selanjutnya dipecah menjadi tartarat dan oksalat. Asam askorbat dapat meregenerasi radikal askorbil dengan bantuan enzim semi dehidroaskorbil reduktase, dan NADPH sebagai sumber energi. Regenerasi vitamin C dari dehidroaskorbat melalui reaksi kimia dengan bantuan GSH atau asam lipoat juga dengan bantuan katalisa reduksi oleh GSH-dependen asam dehidroaskorbat reduktase. Keberadaan aktifitas asam dehidroaskorbat reduktase bisa merangsang redoks asam askorbat potensial, secara tidak langsung berperan pada antioksidan yang lain. Hal tersebut penting dalam memperluas fungsi proteksi antioksidan pada sel-sel yang hidrofobi, dimana asam askorbat dapat mengurangi radikal kromonoksil semistabil, yang dapat meregenerasi bentuk aktif metabolik dari antioksidan lipid vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol recycling) (Combs, 1998)

Asam askorbat dapat mendonorkan satu atom hidrogen pada radikal tokoferoksil dengan kecepatan  $2 \times 10^5$ /M/s. Karena adanya perbedaan potensial reduksi 1 –elektron standar antara asam askorbat (282 mV) dan tokoferol (480 mV) (Muchtadi, 2009)

#### **Hasil studi efek Vitamin C terhadap kadar MDA di tubuh**

Beberapa hasil studi menunjukkan pemberian vitamin C pada tikus yang melakukan kegiatan latihan fisik maksimal sebagai pencetus stres oksidatif dapat menurunkan kadar MDA plasma rata-rata 14.45 nmol/ml dibandingkan dengan tikus yang melakukan kegiatan aktifitas fisik maksimal tanpa pemberian vitamin C dengan kadar MDA rata-rata 15.85 nmol/ml (Khasan, 2015). Penelitian lain juga menunjukkan Injeksi vitamin C dosis tinggi (500 -1000 mg) pada penderita tonsilitis kronik secara intravena pasca tonsilektomi berfungsi sebagai antioksidan dan mempercepat proses penyembuhan luka pasca tonsilektomi, serta dapat menurunkan kadar peroksida lipid berupa MDA di dalam plasma dengan nilai rata-rata 119,612 nmol/ml dibandingkan dengan kelompok tanpa pemberian vitamin C, yaitu rata-rata kadar MDA 145,418 nmol/ml (Umami, *et.al* 2017).

#### **4. KESIMPULAN**

Mahluk hidup tingkat tinggi secara aerobik akan menghasilkan radikal bebas sebagai produk sampingan dari metabolisme tubuh. Bila produksi radikal bebas meningkat atau produk antioksidan rendah menyebabkan keseimbangan mengarah pada prooksidasi sehingga menimbulkan stres oksidatif. Walaupun tubuh telah memiliki antioksidan endogen, diperlukan antioksidan eksogen dalam menetralkan kondisi tersebut. Vitamin C atau asam askorbat, salah satu senyawa antioksidan eksogen yang perannya sangat penting mereduksi berbagai radikal bebas. Peningkatan stres oksidatif dapat diketahui dengan meningkatnya kadar MDA sebagai produk dari peroksidasi lipid di dalam plasma maupun di jaringan. Hasil studi menunjukkan Vitamin C dapat menurunkan kadar MDA di dalam tubuh yang mengalami stres oksidatif. Dari studi kepustakaan ini, penulis menganjurkan bagi kita untuk mengkonsumsi suplemen vitamin C atau makanan yang mengandung vitamin C, seperti buah-buahan yang mengandung Vitamin C dan memiliki peran melindungi tubuh dari senyawa ROS yang dapat mengganggu kesehatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afanas'ev I. Signaling by Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Skin Diseases. *Current Drug Metabolism* 2010; 11, 409 - 414
- Almatsier S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Bender DA. Free Radicals and Antioxidant Nutrients. In: Murray K, Bender DA, Botham KM, et al. Eds. *Harper's Illustrated Biochemistry*, Ed 28<sup>th</sup> Mc Graw Hill Lange 2009;482– 86
- Combs GF. 1998. Vitamin C. In: Combs GF. *The vitamins, fundamental aspects in nutrition and health*, 2nd ed. California: Academic Press; p. 245-75.
- Halliwell B dan Gutteridge JM. 1999. Free radicals, reactive species and toxicology. Dalam: *Free radicals in biology and medicine* Third edition. New York: Oxford University Press: 547-550
- Izyumov DS, Domnina LV, O. K. Nepryakhina OK, et al. Mitochondria as Source of Reactive Oxygen Species under Oxidative Stress. Study with Novel Mitochondria-Targeted Antioxidants—the “Skulachev Ion” Derivatives. *Biochemistry (Moscow)*, 2010; 75, (2),123 – 129
- Jusman SA *et al.* 1995. Bawang prei (*Allium fistulosum* Linn) dan metabolisme: Penghambat kenaikan kandungan peroksida lipid hati karena radikal bebas Pada tikus yang diratembagani ccl<sub>4</sub>. *Majalah. Kedokteran Indonesia*; 45 (10): 588-591.
- Kefer JC, Agarwal A, Sabanegh E. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *International Journal of Urology* 2009; 16: 449 – 57
- Khachik FCL *et al.* 2002. Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *EBM*. 227 (10) : 845-851.
- Khasan. 2015. Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C Pada Latihan Fisik Maksimal Terhadap Penurunan Stres Oksidatif Tikus Putih Strain Wistar. *Skripsi*. Semarang : Universitas Negeri Semarang
- Kurnani TB. 2001. Radikal bebas dalam polutan lingkungan. Dalam *seminar nasional dan lokakarya penelitian konsep radikal bebas dan peran antioksidan dalam meningkatkan kesehatan menuju Indonesia sehat 2010*. Bandung: pusat penelitian kesehatan lembaga penelitian UNPAD
- Levine M *et al.* 1995. “Determination of optimal vitamin C requirements in humans”. Dalam : *The American Journal of Clinical Nutrition*. 62 (suppl): 1347S1356S.
- Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress and male infertility. *Indian J Med Res* 2009; 129: 357– 67
- Mates Jm *et al.* 2000. Interrelationship between oxidative damage and antioxidant enzyme activities: an easy and rapid experimental approach. *Biochemical Education* ; 28: 93-95.
- Milczarek R, Hallmann A, Sokolowska E, et al. Melatonin enhances antioxidant action of α-tocopherol and ascorbate against NADPH-- and iron dependent lipid peroxidation in

- human placental mitochondria. *J Pineal Res* 2010; 49, 149-53
- Muchtadi D. 2009. *Gizi Anti Penuaan Dini*. Bandung : Alfabeta.
- Pendit BU. 1996. Metabolisme oksigen dan toksisitas oksigen. Dalam Marks DB, Marks AD, Smith CM. *Biokimia Kedokteran dasar sebuah pendekatan klinis*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC: 321-333.
- Rachman T. Peran ROS terhadap Fungsi Spermatozoa. *Journal Andrologi Indonesia* 2012;
- Rocha M, Mijares AH, malpartidakg, et al. Mitochondria---Targeted Antioxidant Peptides *Current Pharmaceutical Design* 2010; 16, 3124---3131
- Umami VM, Suprihati, Farokah. 2017. Pengaruh Vitamin C Dosis Tinggi Terhadap Peroksidasi Lipid Dan Penyembuhan Luka Pasca Tonsilektomi. *ORLI*; 1(47) :58-64
- Winarsi Hery. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.
- Winarti Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Yuniastuti A. 2008. *Gizi dan Kesehatan*. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Zakaria FR *et al*. 1996. Hubungan antara status imunologi dan pola konsumsi makanan jajanan populasi remaja di Bogor Jawa Barat. Dalam : *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 1 (2):50-59.