

4. PEMBAHASAN

4.1 Aktivitas fisik sebagai penyebab stres oksidatif

Beraktivitas fisik seperti berolahraga dapat menyebabkan stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA). Peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) dapat dilihat dari jurnal Algul *et al.* (2018), pada penelitian ini menunjukkan baik pada kelompok terlatih maupun tidak terlatih mengalami peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) secara signifikan setelah melakukan aktivitas fisik berupa bersepeda selama 30 menit. Pada kelompok orang yang tidak terlatih terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih tinggi yaitu sebesar 0,447 $\mu\text{mol/L}$ dari kelompok orang yang terlatih. Pada kelompok orang yang terlatih terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 0,194 $\mu\text{mol/L}$. Kelompok terlatih atau kelompok yang rutin melakukan aktivitas fisik mempunyai kebugaran yang lebih tinggi karena sudah terbiasa melakukan aktivitas fisik/berolahraga. Sehingga ketika diberi perlakuan berupa bersepeda, subjek dapat meningkatkan resistensi otot rangka terhadap kerusakan akibat peroksidasi lipid. Dan hasil yang didapatkan kadar *malondialdehyde* (MDA) tidak mengalami kenaikan yang terlalu tinggi seperti kelompok yang tidak terlatih (Algul *et al.*, 2018). Hal ini juga didukung oleh jurnal Yunus (2016) yang menunjukkan bahwa peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok terlatih lebih rendah saat melakukan aktivitas fisik berupa bulutangkis jika dibandingkan dengan kelompok yang tidak terlatih (Yunus, 2016).

Berdasarkan proses biokimia dalam terbentuknya energi, aktivitas fisik dapat dibedakan menjadi 2 yaitu aktivitas fisik aerobik dan aktivitas fisik anaerobik (Harahap *et al.*, 2017). Pada penelitian Husin (2016) terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) baik pada perlakuan aktivitas aerobik maupun anaerobik, namun tidak secara signifikan. Pada kelompok aerobik (lari 2 x 800 m dengan interval 120 detik) terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 0,017 sedangkan pada kelompok anaerobik (lari *sprint* 2 x 400 m dengan interval 90 detik) terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 0,114 (Husin, 2016). Peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) setelah beraktivitas fisik juga ditunjukkan pada penelitian Alamsyah (2015). Kadar *malondialdehyde* (MDA) meningkat setelah melakukan aktivitas fisik berupa latihan submaksimal embu berpasangan putra selama 2 menit yang dilakukan pada malam hari, kadar *malondialdehyde* (MDA) mengalami peningkatan sebesar 5,0195 nmol/ml (Alamsyah,

2015). Saat beraktivitas fisik aerobik terjadi peningkatan oksigen di dalam tubuh hingga 20 kali lipat dan akan terjadi fosforilasi oksidatif pada mitokondria. Kemudian oksigen akan masuk ke dalam sistem transpor elektron pada mitokondria untuk direduksi lalu menghasilkan air dan *Adenosin Tri Phospat* (ATP). Selama terjadi proses fosforilasi oksidatif akan terjadi pengikatan molekul oksigen sebanyak 4-5 % dengan elektron tunggal yang bocor dari karier elektron pada rantai pernafasan dan menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas yang terbentuk berupa radikal superoksida (O_2) yang selanjutnya akan membentuk hidroksil reaktif (OH) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) (Husin, 2016). Radikal bebas yang terbentuk ini nantinya dapat menyebabkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang menghasilkan *malondialdehyde* (MDA) (Alamsyah, 2015). Sedangkan pada kondisi anaerob terjadi pemecahan glikogen menjadi asam piruvat setelah itu akan terdisosiasi menjadi asam laktat. Proses ini dapat terjadi karena tidak ada oksigen pada proses anaerobik sehingga asam piruvat yang sudah terbentuk tidak dapat melanjutkan ke proses siklus krebs (Husin, 2016). Pembentukan asam laktat yang berlebih setelah beraktivitas fisik anaerobik dapat menyebabkan penurunan pH dan akan membuat keadaan menjadi asidosis. Hal ini dapat mengganggu kerja dari enzim antioksidan sehingga dapat memicu terjadinya stres oksidatif (Harahap *et al.*, 2017).

Selain peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA), parameter stres oksidatif yang dapat digunakan adalah peningkatan jumlah leukosit. Pada penelitian Harahap *et al.* (2017) menunjukkan bahwa pemberian kedua jenis aktivitas fisik aerobik dengan lari 15 menit dan aktivitas fisik anaerobik dengan lari sprint 300 m dapat meningkatkan jumlah leukosit secara signifikan. Pada kelompok aerobik, jumlah leukosit meningkat sebesar $4,17 \cdot 10^3/l$. Begitu juga pada kelompok anaerobik, jumlah leukosit meningkat sebesar $3,46 \cdot 10^3/l$ (Harahap *et al.*, 2017). Peningkatan jumlah leukosit setelah melakukan aktivitas fisik juga ditunjukkan pada penelitian Mukarromah *et al.* (2013). Pada penelitian ini, aktivitas fisik yang dilakukan oleh wanita obesitas tidak terlatih berupa *aquarobik* seperti *aqua jogging*, *aqua run*, dan *aquafitness* (Mukarromah *et al.*, 2013). Pada penelitian ini pemberian aktivitas fisik berupa *aquarobik* selama kurang lebih 1 jam selama 8 minggu memberikan hasil bahwa terjadi peningkatan jumlah leukosit secara signifikan sebesar 1,88 (Mukarromah *et al.*, 2013). Pada dasarnya saat keadaan fisiologis, radikal bebas akan terbentuk sekitar 5 % dari total konsumsi energi dan pada jumlah tersebut antioksidan yang ada di dalam tubuh dapat menetralkan radikal bebas. Namun saat pembentukan radikal bebas

melebihi 5% maka antioksidan yang ada di dalam tubuh akan sulit untuk menetralkan radikal bebas (Harahap *et al.*, 2017). Terjadinya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan ini yang kemudian dapat merangsang sel leukosit (Harahap *et al.*, 2017). Jumlah leukosit di dalam sirkulasi sangat cepat berubah karena adanya stimulasi fisiologis salah satunya olahraga yang terjadi selama beberapa menit atau beberapa jam (Harahap *et al.*, 2017). Dari penelitian-penelitian di atas dapat dinyatakan bahwa dengan beraktivitas fisik baik secara aerobik maupun anaerobik yang dilakukan oleh kelompok terlatih hingga tidak terlatih sama-sama akan menghasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) dan jumlah leukosit.

4.2 Peran suplemen vitamin C dalam melawan stres oksidatif

Peran antioksidan khususnya vitamin C dalam melawan radikal bebas yang dihasilkan setelah beraktivitas fisik dapat ditunjukkan pada penelitian Poulab *et al.* (2015). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa suplemen vitamin C sebanyak 1000 mg/hari selama 4 minggu dapat menekan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang dihasilkan setelah melakukan latihan fisik dengan *treadmill* selama 45 menit. Peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) secara signifikan pada kelompok vitamin C sebanyak 0,66 $\mu\text{mol/L}$. Sedangkan pada kelompok yang tidak diberi vitamin C peningkatannya lebih tinggi yaitu sebesar 0,84 $\mu\text{mol/L}$. Vitamin C dapat menekan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) karena vitamin C dapat menetralkan radikal bebas di dalam plasma (Poulab *et al.*, 2015).

Pada penelitian Patlar *et al.* (2017) kadar *malondialdehyde* (MDA) baik sebelum maupun sesudah diberi suplemen vitamin C terjadi peningkatan secara signifikan yaitu pada fase *resting* (sebelum melakukan aktivitas fisik) ke fase *exhaustion* (setelah melakukan aktivitas fisik). Vitamin C yang diberikan pada penelitian ini sebesar 300 mg/minggu selama 4 minggu. Pada saat fase *exhaustion* sebelum diberi suplemen vitamin C, kadar *malondialdehyde* (MDA) yang dihasilkan cukup tinggi yaitu sebesar 15,16 $\mu\text{mol/L}$ dan kadar ini lebih tinggi dari kadar *malondialdehyde* (MDA) setelah diberi suplemen vitamin C yaitu sebesar 11,68 nmol/ml. Pada fase *resting* baik sebelum maupun sesudah suplemen vitamin C menunjukkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang cenderung lebih rendah dari fase *exhaustion* yaitu sebesar 09,48 nmol/ml dan 08,62 nmol/ml. Jika kadar *malondialdehyde* (MDA) dilihat secara keseluruhan maka dapat menunjukkan bahwa kadar

malondialdehyde (MDA) pada saat *exhaustion* mempunyai kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih tinggi dari pada keadaan *resting*. Hal ini dapat terjadi karena aktivitas fisik yang dilakukan dalam penelitian ini menyebabkan produksi radikal bebas yang dapat memicu stres oksidatif, kerusakan jaringan otot, dan peroksidasi lipid pada membran. Selama 4 minggu melakukan penelitian ini, terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada fase *exhaustion* sebelum diberi suplemen vitamin C. Namun setelah diberi suplemen vitamin C, kadar *malondialdehyde* (MDA) yang dihasilkan lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C bereaksi untuk menghambat radikal bebas pada individu yang melakukan aktivitas fisik (Patlar *et al.*, 2017).

Pada hasil penelitian Popovic *et al.* (2015) menunjukkan bahwa kelompok dengan latihan akut dapat meningkatkan kadar *malondialdehyde* (MDA) secara signifikan dari 3,04 $\mu\text{mol/L}$ menjadi 4,40 $\mu\text{mol/L}$, sehingga hal ini memastikan bahwa beraktivitas fisik dengan berolahraga dapat memproduksi radikal bebas yang nantinya dapat mengakibatkan stres oksidatif (Popovic *et al.*, 2015). Kemudian saat diberi suplemen vitamin C sebanyak 2 gram/hari selama 14 hari kadar MDA, kelompok olahraga akut mengalami penurunan menjadi 2,12 $\mu\text{mol/L}$. Selain itu juga terjadi penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok olahraga reguler dari 4,26 $\mu\text{mol/L}$ menjadi 3,30 $\mu\text{mol/L}$, hal ini dapat terjadi karena antioksidan seperti vitamin C mempunyai peran yang penting dalam mekanisme pertahanan antioksidan di dalam darah. Vitamin C dapat membentuk senyawa radikal yang reaktif menjadi tidak reaktif hingga dapat menghentikan reaksi radikal bebas (Popovic *et al.*, 2015).

Peran antioksidan dalam melawan stres oksidatif setelah beraktivitas fisik dapat dilihat pada penelitian Rusiani *et al.* (2019). Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian aktivitas fisik pada tikus wistar yang kemudian diberi suplemen vitamin dapat menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih rendah dari kelompok yang tidak diberi suplemen vitamin. Pemberian vitamin C sebanyak 1,8 mg/hari selama 14 hari terbukti menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) lebih rendah yaitu sebesar 14,396 nmol/ml dari kelompok tanpa pemberian suplemen vitamin C yaitu sebesar 16,314 nmol/ml. Begitu juga pada pemberian vitamin E sebanyak 1,44 mg/hari menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih rendah yaitu sebesar 14,854 nmol/ml. Pemberian perlakuan yang hanya diberi vitamin C saja atau vitamin E saja menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang tidak terlalu berbeda jauh. Namun pemberian vitamin C

mempunyai hasil yang lebih baik karena kadar *malondialdehyde* (MDA) yang dihasilkan lebih rendah. Selain itu juga, vitamin C mempunyai sifat kelarutan yang tinggi di dalam air sehingga penyerapannya ke darah dapat lebih optimal. Vitamin C bersifat larut dalam air dan menjadi pertahanan pertama dalam melawan *reactive oxygen species* (ROS) di dalam plasma dan sel (Rusiani *et al.*, 2019). Dalam melawan radikal bebas, vitamin C akan mendonorkan elektronnya dan menjadi radikal askorbil yang sifatnya relatif lebih stabil dan tidak reaktif (Saputro & Junaidi, 2015). Pada dasarnya vitamin C juga mampu mengubah vitamin C itu sendiri ketika menangkal radikal bebas. Awalnya berupa vitamin C reaktif ketika bereaksi dengan radikal bebas kemudian menjadi vitamin C yang lebih stabil (Rusiani *et al.*, 2019). Berbeda hal pada vitamin E yang mempunyai sifat yang larut pada lemak, sehingga kurang optimal saat terjadi penyerapannya dalam darah. Namun vitamin E ada pada lapisan fosfolipid membran sel dan mempunyai peran untuk melindungi asam lemak tidak jenuh ganda serta komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas (Rusiani *et al.*, 2019). Kemudian saat kedua vitamin dikombinasi yaitu antara vitamin C dan vitamin E menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih rendah dari kelompok perlakuan lainnya yaitu sebesar 13,690 nmol/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi kedua vitamin baik vitamin C maupun vitamin E dapat menangkal radikal bebas sehingga kadar *malondialdehyde* (MDA) dapat dipertahankan sehingga tidak meningkat jauh. Penghambatan kedua vitamin jauh lebih efektif karena kedua vitamin bekerja secara sinergis dalam menangkal radikal bebas dari pada kelompok yang hanya menggunakan salah satu vitamin saja. Vitamin E akan memberikan satu elektronnya pada radikal bebas sehingga vitamin E akan berubah sifat menjadi radikal kemudian akan distabilkan oleh vitamin C agar vitamin E menjadi stabil kembali menjadi antioksidan (Rusiani *et al.*, 2019). Ketika perlakuan yang diberi vitamin C saja (14,396 nmol/ml) menunjukkan hasil *malondialdehyde* (MDA) yang tidak jauh berbeda dengan kelompok kombinasi vitamin C dan vitamin E (13,690 nmol/ml) hal ini menunjukkan vitamin C dapat menangkal radikal bebas sama seperti kelompok kombinasi vitamin C dan vitamin E (Rusiani *et al.*, 2019).

Pengaruh antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) juga ditunjukkan pada penelitian Taghiyar *et al.* (2013). Hasil penelitian ini menunjukkan penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) setelah diberi suplemen vitamin pada semua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan suplemen vitamin sebagai antioksidan dapat bekerja

secara baik dalam melawan produksi radikal bebas. Kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok 1 yang diberi suplemen vitamin C sebanyak 250 mg/hari mengalami penurunan secara signifikan sebesar 3,7 ng/ml, untuk kelompok 2 yang diberi suplemen vitamin E sebanyak 400 IU/hari menunjukkan terjadi penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 3,4 ng/ml namun tidak signifikan. Kemudian untuk kelompok 3 yaitu kelompok kombinasi antara vitamin C (250 mg/hari) dan vitamin E (400 IU/hari) menunjukkan penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) secara signifikan sebesar 2,7 ng/ml (Taghiyar *et al.*, 2013). Baik pada kelompok yang hanya diberi vitamin C, vitamin E atau kombinasi antara vitamin C dan vitamin E menghasilkan penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) karena pada dasarnya vitamin C dapat secara efektif menghambat peroksidasi lipid serta vitamin E dapat menekan *reactive oxygen species* (ROS). Pencegahan kerusakan otot oleh vitamin E dilakukan dengan menyumbangkan elektronnya ke radikal bebas sehingga radikal bebas tersebut dapat bersifat lebih stabil (Taghiyar *et al.*, 2013).

Dari penelitian-penelitian di atas menunjukkan bahwa pemberian suplemen vitamin khususnya vitamin C yang diberikan dengan dosis dari yang paling kecil yaitu sebesar 1,8 mg/hari pada penelitian Rusiani *et al.* (2019), 300 mg/minggu pada penelitian Patlar *et al.* (2017), 250 mg/hari pada penelitian Taghiyar *et al.* (2013), dan 1000 mg/hari pada penelitian Poulab *et al.* (2015) mampu menekan dan menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang dihasilkan setelah melakukan aktivitas fisik. Kemudian dari penelitian di atas pemberian dosis paling besar diberikan sebesar 2 gr/hari pada penelitian Popovic *et al.* (2015) juga menunjukkan hasil yang baik karena dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA). Namun jika dilihat dari anjuran pemberian dosis vitamin C yang ada pada tabel AKG (2019), dimana untuk umur 10-49 tahun pada perempuan dianjurkan mengkonsumsi vitamin C 50-75 mg/hari dan pada laki-laki dengan umur 10-49 tahun dosis yang dianjurkan yaitu sebesar 50-90 mg/hari. Oleh karena itu pemberian dosis sebesar 300 mg/minggu pada penelitian Patlar *et al.* (2017) merupakan dosis yang paling sesuai dengan anjuran dari tabel angka kecukupan gizi (AKG) (2019) serta efektif dalam menekan kadar *malondialdehyde* (MDA). Kemudian pemberian suplemen vitamin E sebesar 1,44 mg/hari pada penelitian Rusiani *et al.* (2019) dan 400 IU/minggu pada penelitian Taghiyar *et al.* (2013). Jika dibandingkan dengan anjuran konsumsi vitamin E pada tabel AKG (2019) yaitu sebesar 15 mcg/hari pada laki-laki dan perempuan berumur 10-49 tahun, maka pemberian dosis sebesar 1,44 mg/hari pada penelitian Rusiani *et al.* (2019) merupakan dosis yang paling mendekati dengan

anjuran konsumsi vitamin E pada tabel AKG (2019) dan efektif membantu vitamin C dalam melawan radikal bebas setelah beraktivitas fisik. Sedangkan untuk dosis lainnya, kurang sesuai dengan tabel angka kecukupan gizi (AKG) (2019) walaupun hasil yang didapatkan baik untuk melawan radikal bebas. Namun jika dikonsumsi dalam jangka panjang dengan dosis yang berlebihan dapat menunjukkan efek samping yang kurang baik untuk kesehatan seperti kelelahan, mual, diare, dan batu ginjal (Arel *et al.*, 2017).

4.3 Peran buah-buahan yang mengandung vitamin C dalam melawan stres oksidatif

Selain berupa suplemen, vitamin C dapat berasal dari bahan pangan khususnya buah-buahan. Buah-buahan yang dipakai dalam *review* ini adalah buah yang mudah ditemukan di Indonesia, mempunyai produktivitas yang cukup tinggi di Indonesia, kandungan vitamin C dalam buah cukup tinggi, dan mempunyai aktivitas antioksidan yang baik. Buah-buahan yang dipakai dalam *review* ini salah satunya adalah jambu biji merah. Pada beberapa penelitian berikut, buah jambu biji dapat menghambat radikal bebas yang ditunjukkan dengan penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA), peningkatan jumlah leukosit, dan kadar hemoglobin (HB) serta VO_2max .

Pada penelitian Sinaga *et al.* (2017) meneliti mengenai pengaruh jambu biji merah terhadap jumlah leukosit pada atlet setelah diberi aktivitas fisik maksimal berupa *bleep test*. Hasil penelitian Sinaga *et al.* (2017) menunjukkan bahwa jumlah leukosit baik sebelum maupun sesudah diberi perlakuan baik kelompok P1, P2 dan P3 mempunyai hasil yang berbeda secara signifikan. Kelompok dengan pemberian jambu biji merah sebanyak 3 kali sehari (P2) dapat menekan peningkatan jumlah leukosit lebih baik yaitu sebesar $1,9 \cdot 10^9/l$ dari kelompok yang hanya diberi sebanyak 1 kali sehari (P1) yang mengalami peningkatan sebesar $3,25 \cdot 10^9/l$. Sedangkan pada kelompok kontrol (P3) terjadi peningkatan sebesar $6,34 \cdot 10^9/l$. Peningkatan jumlah leukosit dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pada saat kondisi stres oksidatif, produksi radikal bebas meningkat hingga melebihi kemampuan sistem pertahanan antioksidan. Kemudian dapat menyebabkan aktivitas sel leukosit terangsang dan terjadi peningkatan jumlah leukosit lebih dari $10.000 \text{ sel}/\mu\text{L}$ atau melebihi jumlah *baseline* hitung leukosit. Sehingga semakin tinggi jumlah leukosit maka semakin tinggi pula radikal bebas yang ada di dalam tubuh yang terbentuk dan dapat membuat stres oksidatif (Sinaga *et al.*, 2017). Pemberian jambu biji merah dalam penelitian ini dapat menekan peningkatan jumlah leukosit jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Berkurangnya peningkatan jumlah

leukosit pada kelompok P2 lebih besar dari pada kelompok P1, hal ini dapat terjadi karena dosis jus jambu biji merah yang diberikan kelompok P2 lebih besar yaitu 3x1 hari jika dibandingkan kelompok P1 yang hanya diberikan 1x1 hari. Semakin besar dosis yang diberikan maka kadar antioksidan semakin tinggi sehingga dapat menetralkan radikal bebas yang terbentuk pada saat melakukan aktivitas fisik maksimal (Sinaga *et al.*, 2017).

Pengaruh buah jambu biji merah terhadap stres oksidatif yang dihasilkan setelah melakukan aktivitas fisik berupa *bleep test* juga dapat dilihat pada penelitian Sinaga (2017). Pada jurnal ini menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan eritrosit setelah latihan fisik yang nantinya dapat menyebabkan anemia atau sering disebut *sport anemia*. Hal ini dapat terjadi karena kadar hemoglobin pada eritrosit mengalami penurunan (Sinaga, 2017). Eritrosit akan mengalami hemolisis saat terjadi peroksidasi lipid karena radikal bebas, kemudian dapat menyebabkan hemoglobin mudah terbebas sehingga kadar hemoglobin dalam eritrosit berkurang. Dengan kadar hemoglobin yang menurun diikuti dengan penurunan VO_2max . Penurunan ini menyebabkan penurunan kapasitas transport oksigen pada darah sehingga akan berpengaruh pada *performance* atlet / orang yang melakukan aktivitas fisik. Pada individu yang melakukan aktivitas fisik dapat terjadi peningkatan produksi radikal bebas yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Hal ini nantinya dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan otot yang secara fisik dapat terlihat seperti kelelahan dan nyeri otot. Faktor kelelahan yang berlebih ini nantinya dapat mempengaruhi VO_2max mengalami penurunan. (Sinaga, 2017). Dari pemeriksaan kadar hemoglobin baik pada kelompok kontrol (K1) maupun kelompok eksperimen (K2) terdapat perbedaan yang signifikan. Pada kelompok eksperimen terjadi peningkatan kadar hemoglobin sebesar 0,44 g/dl. Sedangkan pada kelompok kontrol terjadi penurunan kadar hemoglobin sebesar 0,19 g/dl. Penurunan kadar hemoglobin (Hb) setelah melakukan aktivitas fisik maksimal dapat terjadi karena jumlah sel eritrosit yang rusak meningkat setelah melakukan aktivitas fisik maksimal. Sedangkan pada kelompok eksperimen yang diberi perlakuan dengan pemberian jus jambu mendapatkan hasil kadar hemoglobin yang meningkat hal ini dapat terjadi karena jambu merah dapat mencegah terjadinya hemolisis pada membran sel darah merah (Sinaga, 2017). Kemudian untuk hasil pengukuran kadar VO_2max didapatkan hasil terjadi peningkatan secara signifikan baik pada kelompok kontrol maupun eksperimen. Pada kelompok eksperimen kadar VO_2max mengalami peningkatan sebesar 4,42 ml/kgBB/menit begitu juga pada kelompok kontrol juga mengalami peningkatan sebesar 1,38 ml/kgBB/menit. Peningkatan pada kelompok kontrol

dan kelompok perlakuan dapat terjadi karena subjek yang dipakai pada penelitian kali ini adalah orang terlatih atau orang yang sudah terbiasa melakukan aktivitas fisik sehingga mempunyai kapasitas difusi paru yang lebih baik dari pada orang yang tidak terlatih. Kapasitas difusi paru yang semakin baik dan volume gas yang berdifusi yang semakin besar maka semakin baik kemampuan individu dalam melakukan pembebanan kardiorespirasi tanpa mengalami kelelahan yang berarti (Sinaga, 2017). Orang yang terlatih pada dasarnya bernafas lebih dalam dan lambat dari pada orang yang kurang terlatih sehingga oksigen yang dibutuhkan untuk kerja otot pada proses ventilasi berkurang. Oleh karena itu dengan jumlah oksigen yang sama, individu yang terlatih bekerja lebih efektif. Sehingga selama melakukan aktivitas fisik dapat meningkatkan nilai VO_2max . Peningkatan VO_2max ini juga terjadi karena bertambahnya kandungan O_2 pada vena dan arteri serta *cardiac output* yang mengalami peningkatan maksimal (Sinaga, 2017). Kemudian jika kedua kelompok ini dibandingkan, peningkatan paling besar didapatkan oleh kelompok eksperimen yang diberi perlakuan jus jambu biji merah. Pada jambu biji merah mempunyai berbagai kandungan antioksidan yang dapat mencegah terjadinya stres oksidatif. Dimana stres oksidatif ini dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel khususnya sel darah merah. Dan hal ini dapat dilihat pada kadar hemoglobin pada kelompok eksperimen yang lebih tinggi dari kelompok kontrol (Sinaga, 2017).

Pemberian jus jambu merah juga ditunjukkan pada penelitian Zulfachri (2013). Pemberian jus jambu merah setelah diberikan aktivitas fisik maksimal pada sejumlah atlet sepakbola berupa lari 3.000 meter dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA). Hasil penelitian pada Zulfachri (2013) menunjukkan bahwa kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok yang diberi jus jambu merah mengalami penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) secara signifikan sebesar 0,7. Sedangkan pada kelompok kelompok yang tidak diberi jus jambu biji merah menunjukkan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 2. Dari hasil ini dapat diketahui bahwa pemberian jus jambu biji merah pada kelompok perlakuan dapat secara efektif menekan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang dihasilkan setelah melakukan aktivitas fisik sehingga terjadi penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA). Di dalam jus jambu biji merah dengan takaran 100 gram jambu biji merah dan 120 ml air dapat menurunkan kadar radikal bebas karena kandungan jambu biji merah yang kaya akan antioksidan seperti vitamin C (Zulfachri, 2013).

Pada penelitian Winara *et al.* (2017) menunjukkan pemberian aktivitas submaksimal (denyut nadi) rendah yang diberi jus jambu biji merah sebanyak 150 gram secara signifikan mendapatkan kadar *malondialdehyde* (MDA) lebih rendah yaitu sebesar 10,150 dari kelompok dengan pemberian aktivitas submaksimal (denyut nadi) tinggi dengan pemberian jus jambu biji merah sebanyak 150 gram yaitu sebesar 11,900. Kemudian kelompok yang diberi jus jambu biji merah sebanyak 100 gram dengan aktivitas submaksimal (denyut nadi) rendah menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih rendah yaitu sebesar 13,545 dibandingkan dengan kelompok yang diberi aktivitas submaksimal (denyut nadi) tinggi yang menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 13,550. Jika dibandingkan antara kedua dosis pemberian jus jambu biji merah tersebut, semakin banyak pemberian dosis jus jambu biji merah yang diberikan maka lebih efektif dalam menangkal radikal bebas yang terbentuk saat melakukan aktivitas fisik. Dapat dilihat dari kelompok yang diberi dosis jus jambu biji merah sebanyak 150 gram yang menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih rendah (Winara *et al.*, 2017).

Potensi buah jambu biji merah dalam menekan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) juga dapat ditunjukkan pada penelitian Sinaga *et al.* (2018), kelompok eksperimen yang diberi buah jambu biji merah dapat menekan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) lebih baik yaitu sebesar 1,31. Sedangkan pada kelompok kontrol terjadi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang lebih tinggi yaitu sebesar 4,18. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian jambu biji merah selama 28 hari dapat secara signifikan menekan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang ada di dalam tubuh manusia (Sinaga *et al.*, 2018).

Potensi antioksidan juga terdapat pada buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Hasil penelitian Zahra *et al.* (2019) menyatakan bahwa pada semua kelompok perlakuan terjadi penurunan kadar MDA. Pada kelompok X5 yang mendapat pemberian pakan tinggi lemak, aktivitas fisik dan buah naga merah menghasilkan penurunan *malondialdehyde* (MDA) sebesar 0,456 pmol/mg. Begitu juga pada kelompok X3 yang diberi perlakuan pemberian pakan tinggi lemak dan buah naga merah menghasilkan penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 0,988 pmol/mg. Hal ini menunjukkan terdapat potensi antioksidan eksogen yang didapat dari buah naga merah karena dapat menghambat kadar *malondialdehyde* (MDA) pada plasma darah tikus (Zahra *et al.*, 2019). Penurunan kadar MDA ini dapat terjadi dengan cara antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas hidroksil (OH[·]) atau anion superoksida (O₂⁻) sehingga membuat

radikal bersifat lebih stabil (Ma'arif *et al.*, 2020). Penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) setelah diberi buah naga merah juga didukung pada jurnal Panjaitan *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa dengan kandungan antioksidan yang ada di dalam buah naga merah seperti vitamin C, vitamin A, vitamin E, flavonoid, fitoalbumin, dan antosianin dapat menghambat radikal bebas yang dihasilkan oleh asap rokok dan ditunjukkan dengan menurunnya kadar *malondialdehyde* (MDA) (Panjaitan *et al.*, 2017). Keberhasilan buah naga merah dalam menghambat radikal bebas juga didukung oleh penelitian Hakim *et al.* (2018), radikal bebas yang dihasilkan setelah melakukan olahraga Muay Thai berhasil dihambat dengan pemberian buah naga karena pada buah tersebut terdapat berbagai kandungan antioksidan, khususnya vitamin C yang mempunyai peran utama dalam melindungi antioksidan endogen dengan menekan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dengan memutus rantai oksidasi di luar nukleus (Hakim *et al.*, 2018).

Penggunaan buah jeruk yang dikombinasikan dengan wortel juga dapat berpengaruh pada kadar *malondialdehyde* (MDA) seperti pada penelitian Samuel *et al.* (2017) yang menunjukkan bahwa semakin lama aktivitas fisik yang dilakukan maka semakin tinggi produksi radikal bebas yang dihasilkan pula. Hal ini terbukti bahwa kadar *malondialdehyde* (MDA) baik pada kelompok yang diberi ekstrak (kelompok A) maupun kelompok yang tidak diberi ekstrak (kelompok B) sama-sama mengalami peningkatan *malondialdehyde* (MDA) secara signifikan seiring bertambahnya waktu dalam melakukan aktivitas fisik. Kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok A1 sebesar 0,5277 $\mu\text{mol/L}$ dengan B1 sebesar 0,8571 $\mu\text{mol/L}$, kelompok A2 sebesar 0,5866 $\mu\text{mol/L}$ dengan B2 sebesar 0,9455 $\mu\text{mol/L}$, dan kelompok A3 sebesar 0,8438 $\mu\text{mol/L}$ dengan B3 sebesar 1,6161 $\mu\text{mol/L}$. Kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok mencit yang tidak diberi kombinasi ekstrak jeruk brastagi dan wortel (kelompok B) lebih tinggi dari kelompok mencit yang diberi kombinasi ekstrak jeruk brastagi dan wortel (kelompok A) baik pada menit ke-10, 20, dan 30. Peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok A lebih rendah dari kelompok B. Hal ini dapat terjadi karena peran wortel dan jeruk brastagi yang mempunyai kandungan antioksidan yang cukup tinggi dapat menangkal adanya radikal bebas yang dihasilkan setelah melakukan aktivitas fisik sehingga dapat menekan peningkatan kadar MDA (Samuel *et al.*, 2017).

Kombinasi jeruk dan wortel juga digunakan pada penelitian Dewi *et al.* (2017). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kadar *malondialdehyde* (MDA) mengalami penurunan secara signifikan baik pada kelompok A dengan pemberian ekstrak dari kombinasi jeruk dan wortel dan kelompok B

tanpa pemberian ekstrak kombinasi jeruk dan wortel. Pada kelompok A1 menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 0,8920 $\mu\text{mol/L}$, kelompok A2 sebesar 0,7902 $\mu\text{mol/L}$, kelompok A3 sebesar 0,7473 $\mu\text{mol/L}$, kelompok A4 sebesar 0,6696 $\mu\text{mol/L}$, dan kelompok A5 sebesar 0,5786 $\mu\text{mol/L}$. Kemudian pada kelompok B1 menghasilkan kadar *malondialdehyde* (MDA) sebesar 1,0071 $\mu\text{mol/L}$, kelompok B2 sebesar 0,9348 $\mu\text{mol/L}$, kelompok B3 sebesar 0,8732 $\mu\text{mol/L}$, kelompok B4 sebesar 0,7554 $\mu\text{mol/L}$, dan kelompok B5 sebesar 0,6696 $\mu\text{mol/L}$. Hasil berikut menunjukkan bahwa kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok yang tidak diberi kombinasi ekstrak jeruk brastagi dan wortel (kelompok B) cenderung lebih tinggi dari kelompok yang diberi kombinasi ekstrak jeruk brastagi dan wortel (kelompok A) baik pada menit ke-0, 15, 30, 60, dan 240. Hal ini dapat terjadi peran wortel dan jeruk brastagi yang diberikan pada kelompok A mempunyai kandungan antioksidan yang cukup tinggi sehingga dapat menangkal adanya radikal bebas yang dihasilkan setelah melakukan aktivitas fisik. (Dewi *et al.*, 2017). Sesaat setelah melakukan aktivitas fisik terjadi pelepasan elektron yang dapat membentuk radikal bebas dan dengan adanya pemberian ekstrak jeruk dan wortel yang mengandung berbagai macam antioksidan seperti vitamin C dan beta karoten maka dapat mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA). Pemberian jeruk dan wortel akan mempercepat penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang pada normalnya akan kembali normal setelah 24 jam namun dengan mengonsumsi buah jeruk dan wortel akan mempercepat penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) (Dewi *et al.*, 2017).

Pemberian buah-buahan yang mengandung vitamin C yang tinggi pada penelitian diatas dapat membantu melawan radikal bebas. Pemberian buah jambu biji merah sebanyak 100 gr/hari pada penelitian Zulfachri (2013) dan Winara *et al.* (2017), 150 gr/hari pada penelitian Winara *et al.* (2017) dapat menekan dan menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA). Selain itu juga dapat meningkatkan kadar hemoglobin (HB) serta VO_2max di dalam tubuh. Pada buah jambu biji merah mengandung vitamin C sebesar 228 mg/100 gr (USDA, 2019). Dan buah jambu biji merah mempunyai kandungan IC_{50} sebesar 45,5 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dapat dinyatakan bahwa buah jambu biji merah mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan dapat berperan dalam melawan radikal bebas (Sinaga, 2017).

Buah selanjutnya yaitu buah naga merah. Pada buah naga mengandung vitamin C sebesar 6,4 mg/100 gr (USDA, 2019). Dan juga mempunyai aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam IC_{50}

sebesar 67,45 ppm. Sehingga dapat dikategorikan buah naga merah mempunyai aktivitas antioksidan kuat (Widianingsih, 2017). Pemberian buah naga pada penelitian Zahra *et al.* (2019) dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA) di dalam tubuh.

Pemberian buah jeruk brastagi pada penelitian Samuel *et al.* (2017) dan Dewi *et al.* (2017) dapat efektif dalam menurunkan dan menekan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) di dalam tubuh. Pada dasarnya jeruk mempunyai kandungan vitamin C sebesar 59,1 mg/100 gr (USDA, 2019). Jeruk sendiri mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ berkisar 71,34 ppm sehingga dapat digolongkan bahwa buah jeruk mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dan dapat menurunkan kadar *malondialdehyde* (MDA) (Puspitasari *et al.*, 2019).

4.4 Pengaruh stres oksidatif terhadap antioksidan

Pada saat terjadi stres oksidatif, antioksidan endogen yang dihasilkan di dalam tubuh mengalami peningkatan. Antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis yaitu seperti *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroksidase* (GSH-Px), dan *catalase* (CAT) (Sutysna *et al.*, 2014). Peningkatan antioksidan endogen dapat dilihat dari beberapa jurnal penelitian berikut. Nilai antioksidan endogen diantaranya *glutathione* (GSH), *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroksidase* (GSH-Px), dan *catalase* (CAT) dalam penelitian Patlar *et al.* (2017) mengalami peningkatan secara signifikan setelah melakukan aktivitas fisik baik sebelum maupun sesudah diberikan suplemen vitamin C. Kadar *glutathione* (GSH) sebelum diberi suplemen vitamin C sebagai berikut 20,90 mg/dl menjadi 30,04 mg/dl setelah melakukan aktivitas fisik, kemudian setelah diberi suplemen vitamin C, kadar *glutathione* (GSH) sebesar 22,64 mg/dl menjadi 32,08 mg/dl setelah melakukan aktivitas fisik. Sedangkan pada kadar *glutathione peroksidase* (GSH-Px) sebelum diberi suplemen vitamin C sebesar 50,30 nmol/ml menjadi 60,65 nmol/ml setelah melakukan aktivitas fisik dan setelah diberi suplemen vitamin C kadar *glutathione peroksidase* (GSH-Px) dari 49,08 nmol/ml menjadi 63,54 nmol/ml setelah diberi aktivitas fisik. Kemudian kadar *superoxide dismutase* (SOD) sebelum diberi suplemen vitamin C sebesar 0,03 U/ml menjadi 0,07 U/ml setelah melakukan aktivitas fisik dan setelah diberi suplemen vitamin C kadar *superoxide dismutase* (SOD) dari 0,04 U/ml menjadi 0,08 U/ml setelah diberi aktivitas fisik. Untuk kadar *catalase* (CAT) sebelum diberi suplemen vitamin C sebesar 10,04 nmol/ml menjadi 14,90 nmol/ml setelah melakukan aktivitas fisik dan setelah diberi suplemen vitamin C kadar *catalase*

(CAT) dari 9,28 nmol/ml menjadi 15,88 nmol/ml setelah melakukan aktivitas fisik. Dan jika dibandingkan kembali nilai antioksidan endogen saat berada di fase *exhaustion* atau fase setelah melakukan aktivitas fisik cenderung mempunyai nilai yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan fase *resting* atau fase disaat sebelum melakukan aktivitas fisik. Hal ini dapat terjadi karena pada fase *exhaustion* lebih berpotensi terjadi stres oksidatif (Patlar *et al.*, 2017).

Peningkatan kadar antioksidan endogen juga ditunjukkan pada penelitian Maryanto (2013). Pada penelitian tersebut menunjukkan terjadinya peningkatan kadar *superoxide dismutase* (SOD) diberi perlakuan berupa buah jambu biji merah. *Superoxide dismutase* (SOD) merupakan antioksidan endogen yang dapat diproduksi di dalam tubuh namun jumlah dari *superoxide dismutase* (SOD) tergantung dari jumlah antioksidan eksogen dan radikal bebas yang ada di dalam tubuh (Maryanto, 2013). Peningkatan antioksidan endogen dapat terjadi sebagai respon untuk melawan produksi radikal bebas sehingga dapat meminimalkan kerusakan oksidatif (El Abed *et al.*, 2014). Pada dasarnya saat radikal bebas menyerang tubuh, antioksidan endogen salah satunya *superoxide dismutase* (SOD) bertugas dalam menangkal radikal bebas tersebut (Maryanto, 2013). Kemudian penambahan antioksidan eksogen ini akan menjadi pertahanan awal untuk melawan radikal bebas (Rusiani *et al.*, 2019). Selain peningkatan antioksidan endogen juga terjadi peningkatan *total antioxidant capacity* (TAC) pada penelitian Poulab *et al.* (2015). Penelitian ini menunjukkan bahwa dengan pemberian suplemen vitamin C dapat meningkatkan kadar *total antioxidant capacity* (TAC) secara signifikan dari 2,16 mm/l menjadi 2,63 mm/l (Poulab *et al.*, 2015). Peningkatan kadar *total antioxidant capacity* (TAC) ini dapat terjadi karena peran pemberian suplemen vitamin C yang dapat mengikat dan membawa radikal bebas yang dihasilkan setelah berolahraga atau beraktivitas fisik sehingga dapat membantu mencegah kerusakan oksidatif yang ditimbulkan saat beraktivitas fisik (Patlar *et al.*, 2017).

4.5 Perbandingan vitamin C dalam bahan pangan dengan suplemen vitamin C

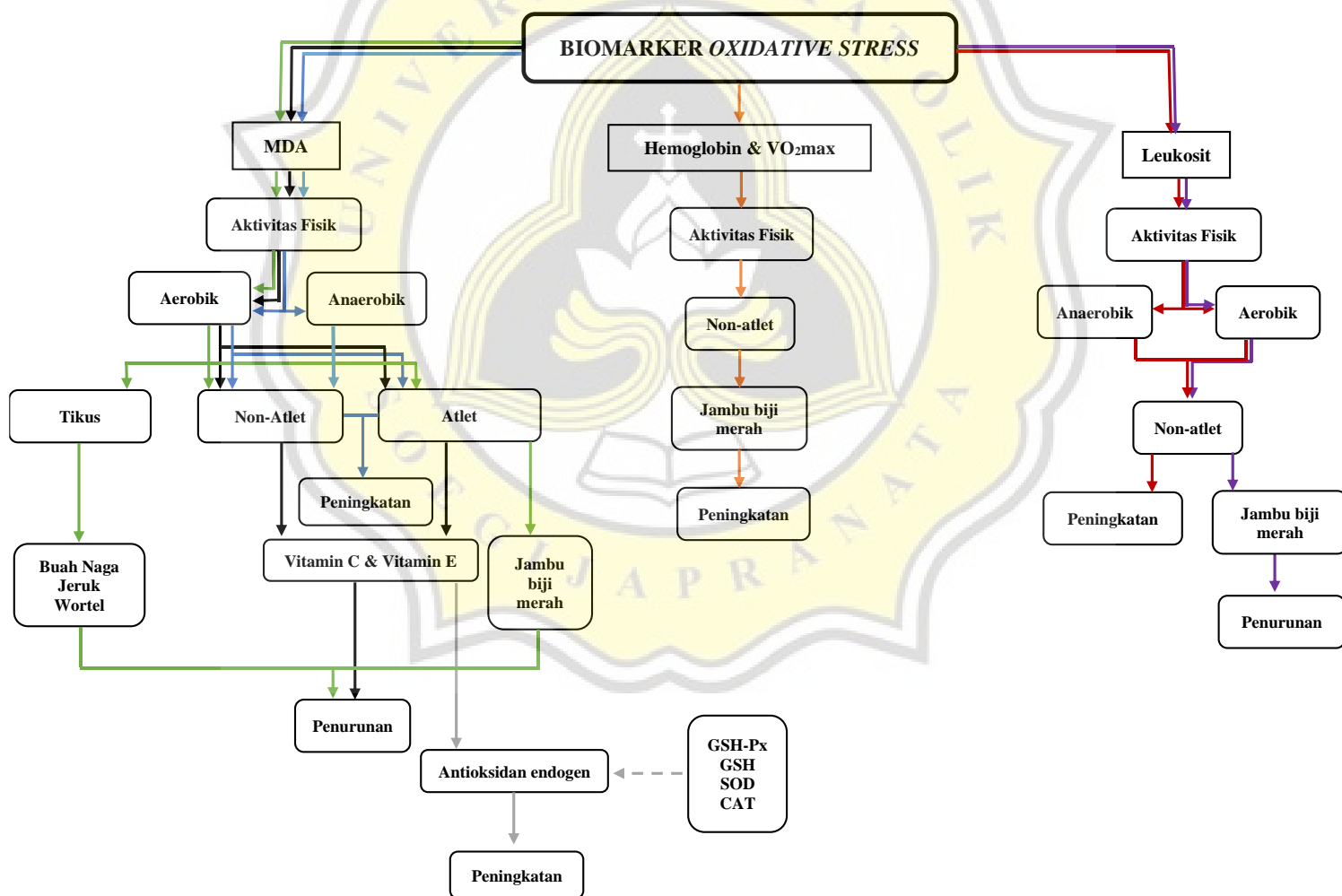
Pada penelitian Popovic *et al.* (2015) menunjukkan pemberian suplemen vitamin C sebanyak 2 gram/hari selama 14 hari dapat meningkatkan kadar vitamin C pada semua kelompok perlakuan setelah melakukan aktivitas fisik berupa *treadmill*. Pada kelompok olahraga akut, kadar vitamin C di dalam tubuh mengalami peningkatan sebesar 43,17 $\mu\text{mol/L}$ dan pada kelompok olahraga reguler, kadar vitamin C juga mengalami peningkatan sebesar 26,56 $\mu\text{mol/L}$ (Popovic *et al.*, 2015).

Peningkatan vitamin C juga terjadi pada penelitian Yusnita (2013) dan Ma'arif *et al.* (2020). Pada penelitian tersebut menunjukkan pemberian buah nanas, jeruk, jambu biji merah dan buah naga merah dapat meningkatkan kadar vitamin C secara signifikan. Dan peningkatan kadar vitamin C akan terus terjadi apabila setiap hari terdapat asupan sumber vitamin C baik dalam bentuk bahan pangan atau suplemen (Cresna *et al.*, 2014). Vitamin C baik dalam bentuk suplemen maupun dari bahan pangan alami tidak dapat disimpan di dalam tubuh dan akan dikeluarkan melalui sistem pembuangan tubuh, sehingga dibutuhkan asupan vitamin C setiap hari. Karena saat mengonsumsi vitamin C akan langsung diserap darah dan akan dibawa ke hati kemudian terjadi mekanisme penyerapan yang terjadi di dalam usus halus difusi pasif (lambat) (Cresna *et al.*, 2014).

Untuk membandingkan vitamin C dalam buah-buahan dan suplemen vitamin C, salah satu cara yang dapat dijadikan parameter untuk membandingkan yaitu kecepatan radikal bebas bereaksi dengan antioksidan. Vitamin C dapat bereaksi dengan radikal bebas, salah satunya yaitu radikal hidroksil. Keduanya bereaksi dengan kecepatan $10^9 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$. Sedangkan saat radikal hidroksil bereaksi dengan lemak, keduanya bereaksi dengan kecepatan $10^8 \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$ (Dewi *et al.*, 2017). Radikal hidroksil dihasilkan saat proses peroksidasi lipid pada membran sel. Sedangkan vitamin C mempunyai sifat yang larut pada air sehingga akan kurang efektif dalam menetralkan radikal hidroksil yang berada pada membran sel. Lemak banyak ditemukan di membran sel sehingga akan lebih efektif pada antioksidan yang dapat larut lemak untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid (Dewi *et al.*, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa radikal hidroksil lebih lambat bereaksi ketika diberi vitamin C yang mempunyai sifat hidrofilik. Sedangkan saat bereaksi dengan lemak, keduanya bereaksi lebih cepat. Kurangnya daya netralisasi dari vitamin C maka dibutuhkan bantuan dari antioksidan yang bersifat larut lemak seperti vitamin E, beta-karoten, dan vitamin yang larut lemak lainnya untuk bereaksi dengan radikal hidroksil agar lebih cepat saat menetralkan radikal hidroksil (Dewi *et al.*, 2017). Sehingga pemberian vitamin C dalam bentuk suplemen kurang efektif dalam melawan radikal bebas jika dibandingkan pada buah-buahan, karena di dalam buah tidak hanya mengandung vitamin C saja. Namun terdapat vitamin dan kandungan lainnya seperti vitamin E, beta-karoten, dan vitamin lainnya yang dapat membantu vitamin C dalam melawan radikal bebas khususnya yang dihasilkan pada proses peroksidasi lipid. Sehingga vitamin-vitamin yang bersifat larut lemak dapat membantu vitamin yang bersifat larut air dalam melawan radikal bebas yang dihasilkan pada proses peroksidasi lipid (Dewi *et al.*, 2017).

Kemudian jika dibandingkan, antioksidan dalam buah-buahan dapat lebih efektif dalam melawan radikal bebas karena kandungan di dalam buah yang lebih beragam jika dibandingkan dengan antioksidan tunggal seperti suplemen vitamin C, karena didalam buah tersebut terdapat komponen vitamin dan mineral lain yang dapat berperan secara positif dan sinergis (Sinaga *et al.*, 2017). Selain itu antioksidan alami yang terdapat di dalam buah lebih aman dikonsumsi sehingga dapat meningkatkan kesehatan (Hakim *et al.*, 2018). Kelebihan vitamin C yang didapatkan dari bahan pangan jarang menunjukkan efek samping dan tubuh akan mengekskresikan melalui urin namun berbeda hal jika kelebihan mengonsumsi suplemen vitamin C maka dapat menimbulkan efek samping yang kurang baik seperti mual, diare, kelelahan, dan batu ginjal (Arel *et al.*, 2017).

Jika rangkum secara keseluruhan maka review berikut dapat dilihat melalui bagan dibawah ini,



Gambar 4. Graphical summary