



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT APEL MANALAGI
(*Malus sylvestris Mill*) DALAM MENCEGAH PENINGKATAN KADAR
MALONDIALDEHYDE (MDA) PLASENTA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
BUNTING AKIBAT YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

**Nova Dewi Kusuma Hapsari
NIM155070601111038**

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	1
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERUNTUKAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI.....	2
DAFTAR TABEL	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR GAMBAR	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR LAMPIRAN.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR SINGKATAN	Error! Bookmark not defined.
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	Error! Bookmark not defined.
1.2 Rumusan Masalah.....	Error! Bookmark not defined.
1.3 Tujuan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.1 Tujuan Umum.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.2 Tujuan Khusus.....	Error! Bookmark not defined.
1.4 Manfaat Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1.4.1 Manfaat Akademis.....	Error! Bookmark not defined.
1.4.2 Manfaat Praktis.....	Error! Bookmark not defined.
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Rokok	Error! Bookmark not defined.
2.1.1 Kandungan Asap Rokok.....	Error! Bookmark not defined.
2.1.2 Pengaruh Asap Rokok Pada Kehamilan	Error! Bookmark not defined.
2.2 Radikal Bebas	Error! Bookmark not defined.
2.2.1 Senyawa Oksigen Reaktif (ROS).....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2 Stres Oksidatif	Error! Bookmark not defined.
2.3 Peroksidasi Lipid	Error! Bookmark not defined.
2.3.1 <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	Error! Bookmark not defined.
2.4 Antioksidan	Error! Bookmark not defined.
2.5 Apel (<i>Malus sylvestris Mill</i>).....	Error! Bookmark not defined.
2.5.1 Taksonomi Apel (<i>Malus sylvestris Mill</i>)	Error! Bookmark not defined.
2.5.2 Karakteristik Apel (<i>Malus sylvestris Mill</i>).....	Error! Bookmark not defined.
2.5.3 Kandungan Gizi.....	Error! Bookmark not defined.
2.5.4 Kandungan Zat Antioksidan.....	Error! Bookmark not defined.
2.6 Plasenta.....	Error! Bookmark not defined.



2.6.1	Fungsi Plasenta	Error! Bookmark not defined.
2.7	Tikus	Error! Bookmark not defined.
2.7.1	Gambaran Umum Tikus	Error! Bookmark not defined.
2.7.2	Taksonomi.....	Error! Bookmark not defined.
2.7.3	Perkembangan Embriologi Tikus	Error! Bookmark not defined.
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	Error! Bookmark not defined.
3.2	Hipotesis Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB 4 METODE PENELITIAN		
4.1	Desain Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.2	Sampel Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.2.1	Kriteria Inklusi.....	Error! Bookmark not defined.
4.2.2	Kriteria Eksklusi	Error! Bookmark not defined.
4.2.3	Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel.....	Error! Bookmark not defined.
4.3	Variabel Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.5	Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.5.1	Bahan dan Alat Pemeliharaan Hewan Coba...	Error! Bookmark not defined.
4.5.2	Bahan dan Alat Perlakuan Hewan Coba	Error! Bookmark not defined.
4.5.3	Bahan dan Alat Pembedahan dan Pengambilan Plasenta Tikus	Error! Bookmark not defined.
4.5.4	Bahan dan Alat Pengukuran MDA ..	Error! Bookmark not defined.
4.5.5	Alat Penimbangan Berat Badan Tikus.....	Error! Bookmark not defined.
4.5.6	Alat Pembuatan Ekstrak Kulit Apel..	Error! Bookmark not defined.
4.5.7	Alat untuk Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba	Error! Bookmark not defined.
4.6	Definisi Operasional.....	Error! Bookmark not defined.
4.7	Prosedur Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.7.1	Aklimatisasi Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.2	Prosedur Pemeliharaan Tikus.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.3	Pembagian Kelompok Hewan Coba	Error! Bookmark not defined.
4.7.4	Prosedur Pembuntingan hewan coba	Error! Bookmark not defined.
4.7.5	Prosedur Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.



4.7.6 Prosedur Pembuatan Ekstrak Kulit Apel.....**Error! Bookmark not defined.**

4.7.7 Penentuan Dosis Ekstrak Kulit Apel.**Error! Bookmark not defined.**

4.7.8 Prosedur Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel pada Hewan Coba
Error! Bookmark not defined.

4.7.9 Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Plasenta..... **Error!
Bookmark not defined.**

4.7.10 Teknik Pengukuran Kadar MDA**Error! Bookmark not defined.**

4.8 Alur Penelitian**Error! Bookmark not defined.**

4.9 Analisis Data**Error! Bookmark not defined.**

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**

5.2 Analisis Data**Error! Bookmark not defined.**

BAB 6 PEMBAHASAN

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan**Error! Bookmark not defined.**

7.2 Saran**Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA **Error! Bookmark not defined.**

LAMPIRAN..... **Error! Bookmark not defined.**



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT APEL MANALAGI
(*Malus sylvestris Mill*) DALAM MENCEGAH PENINGKATAN KADAR
MALONDIALDEHYDE (MDA) PLASENTA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
BUNTING YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh:

Nova Dewi Kusuma Hapsari

NIM. 155070601111038

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal: 15 April 2019

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK(K)

NIK. 190148700

Pembimbing-I/Penguji-II

Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes

NIK.171152693

Pembimbing-II/Penguji-II

Rahma Dian H, SST. M.Keb

NIP. 2018028709212001

Mengesahkan,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan,

Linda Ratna Wati, SST. M.Kes

NIP. 108409132014042001





ABSTRAK

Hapsari, Nova Dewi Kusuma. 2019. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) Dalam Mencegah Peningkatan Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Plasenta Tikus (*Rattus Norvegicus*) Bunting Yang Dipapar Asap Rokok.** Tugas Akhir, Program Studi S-1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes., (2) Rahma Dian H, SST, M.Keb.

Latar Belakang: Prevalensi perokok yang semakin meningkat juga akan meningkatkan paparan asap rokok. Asap rokok merupakan sumber radikal bebas yang dapat berpengaruh terhadap kesehatan. Paparan asap rokok juga berbahaya untuk ibu yang sedang hamil. Tujuan: untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi dapat mencegah peningkatan MDA plasenta tikus bunting yang dipapar asap rokok. Metode: Penelitian ini menggunakan desain *Randomized Post Test Only Control Group Design*, dengan cara membandingkan kadar MDA antar kelompok. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok yang diberi perlakuan dan 2 kelompok sebagai kontrol. Kelompok kontrol negatif (K-) adalah tikus bunting tidak dipapar asap rokok dan tanpa diberi perlakuan ekstrak etanol kulit apel. Sedangkan kelompok kontrol positif (K+) adalah tikus yang bunting yang diberi perlakuan paparan asap rokok dan tanpa diberikan perlakuan ekstrak kulit apel. Kelompok perlakuan yaitu tikus bunting yang dipapar asap rokok dengan pemberian ekstrak etanol kulit apel dengan 3 dosis berbeda (P1=7; P2=14; P3=28 mg/kgBB/hari) selama 13 hari. Perlakuan dan pemaparan asap rokok diberikan pada hari ke 6-18 kebuntingan. Analisis data menggunakan uji One Way Anova dan dilanjutkan Post Hoc kemudian dengan korelasi Pearson. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kadar MDA plasenta di kelompok K+ lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok lain. K- berbeda secara signifikan dengan K+, P1 dan P2. P3 lebih rendah dibandingkan K+ secara signifikan, namun tidak berbeda secara bermakna dengan K-. Kesimpulan: Penelitian ini menghasilkan dosis yang efektif ekstrak etanol kulit apel manalagi dalam mencegah peningkatan kadar MDA adalah 28 mg/KgBB/hari.

Kata Kunci: asap rokok, ekstrak etanol kulit apel, MDA, tikus bunting

**ABSTRACT**

Hapsari, Nova Dewi Kusuma. 2019. **The Effect of Ethanol Extract of Manalagi Apples Skin (*Malus sylvestris Mill*) in Preventing Increase of Malondialdehyde (MDA) Pregnant Rat's (*Rattus norvegicus*) Placenta Due To The Exposure of Cigarette Smoke.** Final Assignment, Midwifery Study Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors : (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes., (2) Rahma Dian H, SST, M.Keb.

Background: The increasing prevalence of smokers will increase exposure to cigarette smoke. Cigarette smoke is a source of free radicals that can affect health including pregnant women. Increased of free radicals can increase MDA levels. **Objective:** to prove that ethanol extract of manalagi apple peel can prevent an increase of MDA levels in placental pregnant rat due to exposed of cigarette smoke. **Method:** This study used the Randomized Post Test Only design by comparing MDA levels between groups, which were divided into 5 groups: K(-) not exposed to cigarette smoke and without ethanol extract of apple peel; K(+) exposure to cigarette smoke without extract of apple peel; Treatment groups are extract of apple peel (P1 = 7; P2 = 14; P3 = 28 mg/kgBW/day) with exposure to cigarette smoke. The treatment and exposure is given on the 6-18th day of pregnancy. Data was analysis using ANOVA, followed by Post Hoc and then with Pearson correlation. The results of this study indicate that placental MDA levels in the K+ group are greater when compared to other groups. K- is significantly different from K+, P1, P2. P3 is significantly lower than K +, but not significantly different from K-. **Conclusion:** the effective dose of ethanol extract of manalagi apple peel in preventing an increase in MDA levels is 28 mg/KgBB/day.

Keywords: apple skin ethanol extract, cigarette smoke, MDA, pregnant rats



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses kehamilan dipengaruhi oleh banyak faktor. Selama kehamilan peran ibu sangat penting dalam menunjang pertumbuhan dan perkembangan janin. Salah satu organ yang berperan adalah plasenta. Plasenta sebagai tempat pertukaran nutrisi dan oksigen melalui sirkulasi retroplasenta. Selain itu lingkungan juga dapat berpengaruh terhadap kehamilan. Lingkungan ibu yang kurang mendukung seperti tingginya radikal bebas, salah satunya yang berasal dari paparan asap rokok akan berdampak buruk terhadap kehamilan. Merokok merupakan gaya hidup yang sulit dicegah dalam masyarakat. Kebiasaan merokok dapat mengancam kesehatan yang saat ini sedang dihadapi oleh beberapa negara di dunia termasuk negara Indonesia. Menurut The Tobacco Atlas 3rd edition, 2009 presentasi penduduk dunia yang mengkonsumsi tembakau sebanyak 57% dari penduduk Asia dan Australia, 14% dari penduduk Eropa Timur dan Uni Soviet, 12% penduduk Amerika, 9% penduduk Eropa Barat dan 8% penduduk Timur Tengah serta Afrika. Sementara untuk kawasan ASEAN merupakan 10% dari seluruh perokok di dunia dan 20% merupakan penyebab kematian karena tembakau. Penduduk di negara ASEAN khususnya Indonesia merupakan salah satu negara konsumen tembakau paling besar di dunia yaitu sebesar 46,16% (Depkes RI, 2016). Menurut WHO, Indonesia merupakan negara ketiga dengan jumlah perokok terbesar didunia setelah Cina dan India.

Semakin meningkatnya konsumsi rokok maka akan semakin meningkatkan produksi asap rokok yang dihasilkan sehingga dapat berdampak terhadap lingkungan sekitarnya. Peningkatan asap rokok berhubungan dengan tingginya



angka kematian dan semakin besarnya komplikasi penyakit yang disebabkan oleh asap rokok. Asap rokok sangat berbahaya bagi kesehatan (Kashinakunti *et al.*, 2011). Terlebih lagi terhadap ibu hamil yang telah disebutkan di dalam setiap kemasan rokok yaitu merokok dapat mengakibatkan gangguan kehamilan dan janin (Lai *et al.*, 2013). Lingkungan ibu hamil yang buruk seperti adanya paparan asap rokok akan berpengaruh terhadap perkembangan plasenta serta berdampak negatif terhadap pertumbuhan janin. Hal ini dikarenakan senyawa yang terdapat di dalam asap rokok mampu menembus barrier plasenta (Eliopoulos *et al.*, 1996; Delpisheh *et al.*, 2006). Kondisi seperti ini memungkinkan radikal bebas yang diperoleh oleh ibu akan ditransfer ke fetus melalui plasenta. Meskipun ibu hamil tidak merokok secara langsung, namun sangat memungkinkan untuk terpapar asap rokok dari sekelilingnya kemudian terhirup masuk ke dalam jalan napas selanjutnya masuk ke peredaran darah dan jaringan (Djojodibroto, 2009). Dengan demikian memungkinkan dapat berdampak terhadap plasenta dan janin.

Asap rokok mengandung senyawa kimia yang dapat meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh. Asap rokok dianggap sebagai produk berbahaya karena dapat berkontribusi terhadap kerusakan oksidatif dalam biomolekuler di dalam tubuh. Kerusakan oksidatif dapat menyebabkan gangguan homeostasis sel, stimulasi terhadap pertumbuhan, dan pertahanan tubuh. Gangguan homeostasis yang disebabkan karena peningkatan radikal bebas dari asap rokok ini dapat memicu reaksi berantai sehingga menghasilkan peningkatan oksidasi makromolekul, seperti Reactive Oxygen Species (ROS). Dalam keadaan normal ROS berperan dalam proses fisiologis dalam tubuh seperti proses pertumbuhan, biosintesis hormon, sistem pertahanan tubuh, fertilisasi dan signal seluler (Widayati, 2012). Namun apabila konsentrasi ROS melebihi kapasitas antioksidan



akan berpengaruh terhadap makromolekul dan berpotensi menyebabkan gangguan sel. Apabila mekanisme proteksi tubuh terhadap peningkatan ROS tidak sempurna maka kadar oksigen reaktif seperti superoksida (O_2^-), hydrogen peroksida (H_2O_2), hidroksil (OH^\cdot) akan terbentuk lebih tinggi dan apabila berikatan dengan lipid dapat menyebabkan peningkatan stress oksidatif di dalam sel. Stress oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan di dalam tubuh. Keadaan ini akan menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid. Radikal lipid yang terbentuk bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi lipid yang kemudian mengambil hidrogen sehingga menghasilkan hidroperoksida lipid. Peroksidasi lipid merupakan bentuk reaksi berantai yang terjadi selama stress oksidatif yang mengarah pada pembentukan berbagai senyawa aktif yang mengakibatkan kerusakan oksidatif pada membran sel (Flemming *et al.*, 1997). Pada akhir proses peroksidasi lipid terbentuk produk seperti *malondialdehyde* (MDA) (Devlin, 2002). MDA dapat digunakan sebagai indikator untuk menentukan kerusakan patologis yang menggambarkan derajat stress oksidatif (Singh *et al.*, 2014). Peningkatan radikal bebas yang berasal dari asap rokok dan dapat menembus *barrier* plasenta akan menginisiasi proses peroksidasi lipid pada plasenta sehingga menghasilkan produk *malondialdehyde* (MDA). *Malondialdehyde* (MDA) dapat digunakan sebagai indikator peningkatan peroksidasi lipid. Kondisi meningkatnya aktivitas peroksidasi lipid dapat mengganggu integritas dari membran sel yang dapat mengakibatkan perubahan susunan struktur membran, oleh karena itu kondisi ini harus dihambat (Yuslianti, 2018).

Selama kehamilan plasenta sangat berperan penting dalam menunjang kehamilan. Fungsi terpenting dari plasenta adalah tempat pertukaran produk



metabolik dan gas antara sirkulasi ibu ke janin dan merupakan tempat sintesis hormon serta sebagai organ pelindung mencegah toksik menuju janin (Sadler, 2009). Ibu hamil yang terpapar asap rokok dapat berdampak negatif terhadap kehamilannya. Semakin meningkatnya konsumsi atau paparan asap rokok pada ibu hamil maka akan semakin kecil berat plasenta janin (Lai *et al.*, 2013). Hal ini dikarenakan senyawa berbahaya yang terkandung dalam asap rokok dapat melewati *barrier* plasenta sehingga mengganggu vaskularisasi villus plasenta dan penurunan sirkulasi retroplasenta. Ibu hamil yang terpapar asap rokok lebih beresiko mengalami keguguran, mortalitas perinatal dan gangguan pertumbuhan dan perkembangan janin (Broussard *et al.*, 1997). Dalam penelitian sebelumnya dikemukakan bahwa asap rokok juga berpengaruh terhadap kesehatan janin yaitu berat badan lahir rendah (Delpisheh *et al.*, 1998; J Leonardi *et al.*, 2008). Jauniaux dan Graham (2007) menyebutkan bahwa efek paparan asap rokok dapat menyebabkan abortus, kehamilan ektopik, plasenta akreta-previa pada awal kehamilan. Selain itu juga dapat menyebabkan solusio plasenta, insufisiensi fungsi plasenta, gangguan pertumbuhan janin, ketuban pecah dini dan prematuritas pada akhir kehamilan.

Dalam kondisi fisiologis, tubuh sudah memiliki mekanisme terhadap radikal bebas melalui metabolisme enzimatik maupun nonenzimatik serta pertahanan antioksidan yang kompleks. Namun apabila pemaparan terjadi secara terus-menerus maka akan meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh. Kondisi ini memungkinkan tidak mampu ditanggulangi oleh mekanisme tubuh sendiri. Dengan demikian untuk meminimalkan efek yang diakibatkan, diperlukan perlindungan yang dapat menetralkan radikal bebas yang berasal dari asap rokok seperti antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat ditemukan di dalam



makanan, nutrisi dan herbal yang bermanfaat untuk menetralkan radikal bebas (Schloss dan Viteta, 2014). Dalam menstabilkan radikal bebas, antioksidan berperan untuk melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas, serta menghambat reaksi berantai pembentukan radikal bebas. Salah satu klasifikasi dari antioksidan adalah flavonoid. Senyawa flavonoid banyak terdapat pada kulit buah apel manalagi. Apel manalagi merupakan apel lokal yang memiliki kandungan antioksidan (kuersetin) lebih banyak dibandingkan apel impor seperti apel Fuji dan Red delicious (Cempaka *et al*, 2014). Jenis flavonoid yang terkandung dalam kulit buah apel salah satunya adalah quersetin glikosida. Kandungan quersetin pada apel lebih banyak terdapat pada kulit buah apel dibanding pada daging buah apel (Wolfe and Liu, 2003). Quersetin merupakan senyawa kelompok flavonol terbesar yang mampu menangkal radikal bebas dan spesi oksigen reaktif seperti anion superoksida dan radikal hidroksil (Morikawa *et al.*, 2003; Schmalhausen *et al.*, 2007). Quersetin mampu melindungi tubuh dari beberapa penyakit degeneratif dengan cara menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan aktifitas enzim-enzim antioksidan (Coksun *et al.*, 2004). Walaupun kulit apel telah terbukti sebagai sumber antioksidan, namun sejauh ini belum ada penelitian mengenai ekstrak etanol kulit apel yang dapat mencegah peningkatan kadar *malondialdehid* (MDA) plasenta. Pemberian ekstrak etanol kulit apel diduga dapat mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) plasenta sebagai gambaran penurunan aktifitas radikal bebas pada ibu hamil. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit apel dalam mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang diberi paparan asap rokok.



1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris Mill*) dapat mencegah peningkatan kadar *Malondialdehid* (MDA) plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris Mill*) dalam mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.
2. Membuktikan pengaruh ekstrak etanol kulit apel (*Mallus sylvestris Mill*) dalam mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.
3. Membuktikan dosis efektif ekstrak etanol kulit apel (*Mallus sylvestris Mill*) yang dapat mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya, mengenai ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus*



sylvestris Mill) yang yang dapat digunakan sebagai antioksidan dalam dunia kesehatan.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan kepada masyarakat mengenai manfaat kulit apel yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat digunakan sebagai upaya preventif terhadap kondisi yang terpapar oleh radikal bebas berlebihan.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rokok

Salah satu gaya hidup yang dapat beresiko terhadap kesehatan adalah merokok. Sebagian besar konsumen rokok berasal dari negara berkembang (Depkes RI, 2016). Berdasarkan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 2003 tentang Pengamanan Rokok Bagi Kesehatan menyebutkan bahwa rokok merupakan salah satu zat adiktif hasil dari olahan tembakau yang terbungkus dari tanaman *Nicotiana Tabacum*, *Nicotiana Rustica* dan spesies lainnya atau sintesisnya yang mengandung nikotin dan tar dengan atau tanpa bahan tambahan. Rokok merupakan suatu silinder yang terbuat dari kertas berukuran bervariasi antara 70 hingga 120 mm dengan diameter sekitar 10 mm dan berisi tembakau yang telah dicacah. Rokok dapat diklasifikasikan berdasarkan ada atau tidaknya filter (penyaring) bahan pembungkus rokok, dan bahan baku atau isi rokok (Rahmat Fajar, 2011).

a. Berdasarkan ada atau tidaknya filter

- Rokok filter

Rokok filter merupakan rokok yang memiliki penyaring yang terbuat dari busa serabut sintetis untuk menahan partikel yang berasal dari rokok yang dihisap namun dalam jumlah sedikit.

- Rokok tidak berfilter

Rokok yang tidak memiliki busa serabut sintetis pada kedua ujungnya sehingga zat yang terkandung di dalam rokok tidak tersaring.

b. Berdasarkan bahan pembungkus

- Klobot



Rokok klobot merupakan rokok yang bahan pembungkusnya terbuat dari daun jagung yang dikeringkan.

- Kawung

Rokok kawung merupakan rokok yang bahan pembungkusnya terbuat dari daun aren yang sudah dikeringkan terlebih dahulu.

- Sigaret

Sigaret adalah rokok yang pembungkusnya terbuat dari kertas seperti rokok pada umumnya.

- Cerutu

Cerutu merupakan rokok yang bahan pembungkusnya terbuat dari daun tembakau.

c. Berdasarkan bahan baku atau isi

- Rokok putih

Rokok putih adalah rokok yang memiliki bahan baku atau isinya hanya daun tembakau yang sudah diberi saus agar mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.

- Rokok kretek

Rokok yang memiliki bahan baku atau isinya daun tembakau dan cengkeh yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu dan umumnya tidak terdapat filter atau penyaring.

- Rokok Klembak

Rokok klembak merupakan rokok yang memiliki bahan baku berupa daun tembakau, cengkeh, dan kemenyan yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.

d. Berdasarkan proses pembuatan (Jaya, 2009)



- Sigaret kretek tangan, rokok yang proses pembuatannya dengan cara dilinting atau digiling dengan menggunakan tangan atau alat bantu sederhana.
- Sigaret kretek mesin, rokok yang proses pembuatannya dengan cara dimasukkan ke dalam mesin pembuat rokok, dengan menghasilkan rokok berupa batangan.

Seseorang dikatakan perokok aktif apabila orang tersebut menghisap rokok secara langsung. Sedangkan perokok pasif atau *involuntary smoking* merupakan istilah untuk seseorang yang bukan merokok namun menghirup asap rokok dari perokok aktif yang berada di sekelilingnya. Asap rokok yang dihasilkan oleh perokok aktif terdiri dari 2 jenis yaitu asap yang dihasilkan dari perokok aktif selama proses merokok atau disebut juga dengan Mainstream Smoke dan asap yang dihasilkan dari rokok yang menyala atau disebut juga dengan Sidestream Smoke. Asap rokok dibagi menjadi 2 fase yaitu 1) fase partikel padat (Tar) merupakan komponen yang tertinggal dalam filter yang mengandung sekitar 10^{14} radikal bebas dengan konsentrasi yang sangat tinggi dan masa hidup yang panjang dan dapat bereaksi dengan O_2 menghasilkan superoksida anion (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2). Dengan adanya reaksi Fenton dan Haber Weiss akan terbentuk radikal hidroksil reaktif (OH^\cdot) menjadi oksidan kuat serta menyebabkan kerusakan oksidatif membran sel lipid, protein, enzim dan DNA. Kandungan pada fase padat antara lain: nitrosamine, nikotin, nitrosonorktokin, logam berat, karsinogenik amin, dan lain-lain (Sitepoe, 2000; Kashinakunti *et al.*, 2011). 2) fase gas merupakan bagian yang dapat melewati filter sebagian oksidan yang mengandung 10^{15} radikal dan memiliki masa hidup yang pendek. Terdiri dari gas beracun, senyawa organik yang mudah menguap, seperti nitrogen, karbon



monoksida, CO₂, NO[•], NO⁻², H₂S, mentana, hydrogen sianida, aldehid, benzena, toluene, aseton, vinil klorida, unsaturated hydrocarbon, metilamin, nitropan (Valavanidis *et al.*, 2009; Kashinakunti *et al.*, 2011). Dalam penelitian Yayasan Konsumen Indonesia (YLKI) mengungkapkan bahwa perokok aktif hanya menghisap 25% asap rokok dan 75% lainnya dihisap oleh perokok pasif (Pradono, 2003).

2.1.1 Kandungan Asap Rokok

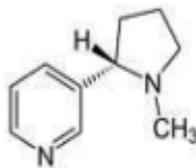
Penggunaan tembakau dan paparan asap rokok merupakan faktor risiko yang dapat menimbulkan masalah kesehatan. Namun kebiasaan ini masih dianggap perilaku yang wajar dan diabaikan oleh sebagian orang. Asap rokok mengandung kurang lebih 4000 senyawa kimia berbahaya termasuk didalamnya bahan beracun dan bahan penyebab kanker (Kashinakunti *et al.*, 2011). Kandungan kimia asap rokok tergantung pada isi dan cara pembuatannya rokok (ada atau tidaknya filter dan bahan tambahan). Partikel pada setiap batang rokok terdiri dari campuran bahan kimia kompleks yang sebagian besar diketahui memiliki efek beracun termasuk zat-zat Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) seperti benzoapyrene, nitrosamises, logam berat (kadmium), alkaloid (nikotin) dan amino aromatik (Budani *et al.*, 2017). Dalam asap rokok terdiri dari karbon monoksida, karbondioksida, hidrogen sianida, amoniak, senyawa hidrokarbon. Kandungan yang terdapat di dalam rokok sangat reaktif dengan substansi yang relatif stabil yang dapat berpotensi menstimulasi sel untuk memproduksi ROS (Noya *et al.*, 2013). Apabila satu batang rokok dibakar akan menghasilkan sekitar 500 mg gas (92%) dan sisanya partikel padat (Kania *et al.*, 2012).



Kandungan kimia yang terdapat dalam rokok antara lain sebagai berikut :

1) Nikotin (β -pyridil- α -N-methyl pyrrolidine)

Nikotin merupakan suatu zat atau bahan senyawa pirrolidin yang terdapat dalam *Nicotiana Tabacum*, *Nicotiana Rustica* dan spesies lainnya atau sintetisnya. Kadar nikotin yang dilepas ke lingkungan (arus samping) ketika rokok dibakar sebanyak 4-6 kali lebih banyak dibandingkan dengan asap rokok yang dihisap oleh perokok. Hal ini dikarenakan perbedaan dalam pembuatannya serta asap terus menerus dihasilkan selama rokok menyala walaupun tidak dihisap. Perbedaan kadar nikotin dari berbagai merk rokok dipengaruhi oleh ada atau tidaknya filter, jumlah, jenis dan campuran tembakau serta senyawa tambahan yang digunakan dalam rangka meningkatkan aroma dan rasa dalam tiap batang rokok (Susanna, 2003). Nikotin merupakan senyawa alkaloid yang bersifat lipofilik dan mempunyai kemampuan menembus sawar darah otak sehingga menyebabkan addiksi (Blenchet *et al.*, 2004). Nikotin merupakan senyawa yang dapat menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah sehingga mengakibatkan terbatasnya aliran darah ke plasenta dan membatasi suplai nutrisi dan oksigen ke janin (Delpisheh *et al.*, 2006). Secara umum gambaran nikotin berbentuk cairan tidak berwarna, basa yang mudah menguap, berubah warna menjadi coklat dan berbau mirip tembakau setelah bercampur dengan udara.



Gambar 2. 1 Rumus Bangun Nikotin (Hukkanen *et al.*, 2005)



2) Tar

Tar merupakan senyawa polinuklir hidrokarbon aromatik yang bersifat karsinogenik dan mengandung radikal stabil yaitu samiquinone (QH) dan radikal karbon (-C). Saat rokok dihisap tar akan masuk kedalam rongga mulut dalam bentuk uap padat kemudian setelah dingin berubah menjadi padat dan membentuk endapan berwarna coklat pada permukaan gigi dan saluran napas. Tar yang berwarna coklat tua atau hitam bersifat lengket serta mampu membungkus selia pada epitel paru yang menyebabkan gangguan sirkulasi oksigen pada pembuluh darah. Tar merupakan kumpulan senyawa kimia yang bersifat karsinogenik hingga mutagenik. Senyawa kimia yang terdapat pada Tar antara lain nitrosamin, SO₂, dan kadmium (Hoffman *et al.*, 1996).

3) Karbon monoksida (CO)

Karbon monoksida merupakan zat beracun yang tidak berwarna serta tidak berbau yang merupakan hasil dari proses pembakaran rokok. Karbon monoksida cenderung berikatan dengan hemoglobin dibandingkan dengan oksigen karena daya mengikatnya lebih kuat dengan hemoglobin. Kondisi ini akan membentuk karboksihemoglobin (COHb) dan menyebabkan kekurangan oksigen dalam darah. Apabila karbon monoksida berikatan dengan hemoglobin lalu menembus barrier plasenta akan berpengaruh terhadap oksigenasi pada janin. Menurut US (2000) rokok kretek di Indonesia sendiri memiliki kandungan nikotin 5,07-5,51 mg/batang, kadar tar 40,7-53,7 mg/batang, dan kadar CO 18,2-23 mg/batang.

4) PAH (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbon*)



PAH merupakan senyawa yang terkandung dalam asap hasil pembakaran yang tergolong partikel padat seperti benzoapyrene. Benzoapyrene merupakan molekul yang dapat menginduksi inflamasi, proliferasi dan migrasi sel (Kania *et al*, 2012). Senyawa ini juga menyebabkan mutasi gen melalui aktivitas “alkylation” yang dapat menghambat kematian sel (apoptosis) sehingga sel dapat menjadi sel kanker (Tanuwihardja dan Susanto, 2012).

5) Timah Hitam (Pb)

Kandungan timah hitam yang terdapat pada sebatang rokok sekitar 0,5 µg dan bersifat berbahaya ketika melebihi ambang batas dalam tubuh yaitu sekitar 20 mg tiap hari (Aditama, 1997). Timbal dapat menghambat perbaikan DNA (seperti: *polymerase*, *ligase*, *kalmmodulin*) serta menghambat enzim dalam metabolisme radikal bebas.

2.1.2 Pengaruh Asap Rokok Pada Kehamilan

Kebiasaan merokok merupakan faktor risiko terhadap masalah kesehatan. Perokok dibedakan menjadi dua yaitu perokok aktif dan perokok pasif. Perokok aktif adalah seseorang yang menghisap rokok secara langsung. Sedangkan perokok pasif adalah seseorang yang bukan perokok namun terkena paparan asap rokok dari sekelilingnya. Walaupun perokok pasif tidak merokok secara langsung, namun memungkinkan akan terkena asap dari rokok dari sekelilingnya, dimana asap rokok yang terhirup mengandung toksik dengan konsentrasi tinggi serta bahan karsinogenik dan gas-gas yang berbahaya lainnya. Perokok pasif menghirup asap arus samping dan arus utama yang berasal dari perokok aktif. Arus samping lebih banyak dibandingkan dengan arus utama dan mengandung bahan berbahaya lebih banyak karena tidak melalui proses penyaringan atau filter dari rokok (Susanna, 2003). Dengan kata lain perokok pasif memiliki risiko yang



lebih besar dibandingkan perokok aktif. Pengaruh dari rokok selain dapat menurunkan kesuburan juga bisa berpengaruh terhadap kehamilan. Asap rokok merupakan sumber oksidan pada ibu hamil yang berdampak terhadap janin dalam kandungan. Hal ini dikarenakan embrio berkembang menjadi janin memerlukan asupan nutrisi dari ibu, sedangkan nutrisi disalurkan dari plasenta melalui tali pusat ke janin. Kondisi ini berarti zat yang terkandung di dalam darah ibu memungkinkan dapat berpengaruh terhadap janin. Ibu hamil baik sebagai perokok aktif maupun perokok pasif dapat menginduksi tubuh untuk memproduksi jumlah radikal bebas berlebih sehingga menyebabkan kadar antioksidan di dalam tubuh menurun. Keadaan tersebut akan berpengaruh terhadap keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sehingga menyebabkan stres oksidatif (Aycicek *et al.*, 2011). Paparan asap rokok selama kehamilan dikaitkan dengan peningkatan kejadian komplikasi obstetri, seperti abortus spontan, kehamilan ektopik, kelahiran prematur, plasenta previa, solusio plasenta, ketuban pecah dini, kematian perinatal (Broussard *et al.*, 1997). Perokok pasif merupakan faktor risiko terhadap mortalitas dan morbiditas pada masa prenatal dan postnatal. Pada masa prenatal berpengaruh terhadap plasenta, perkembangan janin, berat badan lahir rendah, IUGR, mempengaruhi perkembangan paru-paru, otak, dan saraf (Lai *et al.*, 2013; Reeves and Bernstein, 2008; Aycicek *et al.*, 2011). Pada penelitian Delpisheh *et al.* (2006) mengemukakan bahwa bayi yang lahir dari ibu yang merokok selama kehamilan 175 ± 50 gram lebih ringan daripada bayi yang dilahirkan oleh ibu yang tidak merokok. Sedangkan pada masa postnatal berpengaruh terhadap kesehatan, seperti berisiko dua kali lipat kematian bayi mendadak, penyakit respirasi, meningokokus, dan berisiko menderita asma saat dewasa (Hofhuis *et al.*, 2003).



Paparan asap rokok selama kehamilan dapat berpengaruh terhadap tumbuh kembang janin dan berisiko meningkatkan masalah kesehatan (Astuti *et al.*, 2016). Sebenarnya plasenta sudah memiliki *barrier* untuk mencegah zat tertentu agar tidak masuk ke sirkulasi janin, namun ada beberapa komponen asap rokok yang mampu menebus *barrier* plasenta sehingga dapat bebas masuk ke sirkulasi uteroplasenta. Dalam sebuah penelitian terbukti bahwa beberapa bahan toksik dapat melewati plasenta seperti nikotin dan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) yang bersifat oksidan dan mampu memproduksi ROS, sehingga memungkinkan dapat berpengaruh langsung ke janin (Eliopoulos *et al.*, 1994; Delpisheh., *et al* 2006). Zat berbahaya yang terkandung di dalam asap rokok yang mampu menembus barrier plasenta akan berdampak terhadap peningkatan stres oksidatif dan peroksida lipid di plasenta. Peningkatan stres oksidatif ini akan menginisiasi aktivitas peroksidasi lipid yang dapat diukur dengan tingginya kadar *Malondyaldehyde* (MDA) di plasenta. Kandungan nikotin dan karbonmonoksida dari asap rokok dapat berpengaruh terhadap gangguan sirkulasi uteroplasenta yang ditandai dengan berkurangnya suplai nutrisi dan oksigen ke janin (Wickstorn, 2007). Peningkatan konsentrasi bahan kimia beracun seperti benzoapyrene, sianida, tiosianate dan kadmium terjadi di dalam darah dan urine ibu dan berpengaruh terhadap pertumbuhan janin (Delpisheh *et al.*, 2006; Reeves and Bernstein, 2008).

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah spesies kimia yang secara bebas memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbital luarnya. Spesies kimia merupakan atom, ion, atau molekul dari elemen hidrogen, dimana atom hidrogen mengandung satu proton dan elektron yang tidak berpasangan. Adanya elektron yang tidak



berpasangan menyebabkan senyawa menjadi reaktif untuk melengkapi yang tidak berpasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya (Marks *et al.*, 2000). Apabila senyawa yang terikat bersifat ionik memiliki dampak yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa yang terikat berikatan kovalen. Hal ini dikarenakan ikatan tersebut akan digunakan secara bersama-sama dalam orbital terluarnya. Senyawa yang memiliki ikatan kovalen biasanya merupakan molekul besar (biomakromolekul) seperti lipid, protein, asam deoksiribonukleat, dan polisakarida. Semakin besar ukuran molekul yang mengalami kerusakan, maka akan semakin besar pula dampak yang ditimbulkan. Upaya untuk mencari pasangan elektron disebut dengan reaktivitas radikal bebas yang akan menyebabkan reaksi berantai sehingga menghasilkan radikal bebas yang baru. Apabila kedua elektron yang tidak berpasangan bertemu akan bergabung membentuk ikatan kovalen yang stabil. Sebaliknya, apabila senyawa radikal bebas bertemu dengan senyawa yang bukan radikal bebas, akan memungkinkan terjadi seperti, pertama: radikal bebas bertindak sebagai reduktor dengan memberikan elektronnya kepada senyawa yang bukan radikal bebas, kedua: radikal bebas akan bertindak sebagai oksidator dengan menerima elektron dari senyawa yang bukan radikal bebas. Ketiga: radikal bebas bergabung dengan senyawa bukan radikal bebas. Target utama radikal bebas adalah molekul protein, DNA dan karbohidrat serta molekul yang paling rentan terhadap radikal bebas yaitu asam lemak tak jenuh (Lobo *et al.*, 2010). Apabila radikal bebas bereaksi pada protein dapat menyebabkan fragmentasi dan "Cross Link" sehingga menyebabkan terjadinya proteolisis. Sedangkan apabila senyawa radikal bebas di dalam tubuh merusak jaringan lipid akan membentuk peroksida lipid yang memicu proses autokatalisis. Peroksidase (auto oksidasi) lipid yang terpajan oleh oksigen



berpengaruh terhadap kerusakan jaringan. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan proses peroksidasi lebih lanjut. Tahapan pembentukan radikal bebas dikatakan mirip dengan *rancidity oxidative* yang meliputi tiga tahapan sebagai berikut (Favier *et al.*, 1995)

- Tahap inisiasi merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas dimana radikal bebas dibentuk dan bereaksi pada lipid sehingga terbentuk radikal lipid. Selanjutnya radikal lipid bereaksi dengan oksigen terbentuk radikal lipid peroksil. Radikal lipid peroksil ini kemudian akan menyerang molekul lipid yang lain dan mengambil molekul hidrogen untuk membentuk hiperoksida lipid.
- Tahap Propagasi, yaitu terbentuknya radikal baru. Pada proses ini akan menyebabkan reaksi menyebar. Satu molekul radikal dari proses inisiasi dapat mengakibatkan oksidasi banyak molekul.
- Tahap Terminasi merupakan tahap reaksi senyawa radikal bebas dengan radikal lain atau dengan pengubahan radikal, sehingga berubah menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif.

Tanpa kita sadari tubuh kita memproduksi radikal bebas secara terus-menerus baik melalui metabolisme sel normal, peradangan, gangguan gizi, maupun respon terhadap pengaruh dari luar tubuh. Radikal bebas terbentuk melalui dua cara, yaitu secara endogen dan eksogen. Secara endogen merupakan respon normal proses biokimia intrasel maupun ekstrasel, sedangkan eksogen berasal dari luar tubuh seperti polusi, makanan, dan injeksi ataupun absorpsi melalui kulit (Winarsi, 2007).

Sumber radikal bebas :



1) Sumber Endogen

Sumber endogen merupakan sumber radikal yang berasal dari dalam dan terbentuk akibat proses biokimia seperti reduksi oksigen dalam mitokondria yang kurang sempurna. Keadaan ini akan menyebabkan terbentuknya superoksida, interaksi superoksida atau hidrogen peroksida dengan ion logam transisi. Radikal bebas juga dihasilkan oleh oksidase xanthine, peroksisom, olahraga, iskemia, dan sel fagosit dari beberapa proses peradangan. Pada proses biokimia, dibentuk secara berkelanjutan melalui proses fosforilasi oksidatif pada respirasi sel (Lobo *et al*, 2010). Radikal bebas endogen terbentuk dari hasil metabolisme tubuh, seperti:

- Superoksida (O_2^-)

Spesies hasil penambahan satu elektron pada oksigen disebut dengan superoksid. Dimana radikal ini diproduksi melalui proses enzimatik dengan reaksi autooksidan maupun dengan transfer elektron non-enzimatik yang merupakan proses biokimia dalam fisiologis tubuh. Selain itu superoksida (O_2^-) dapat diproduksi dari oksidasi NADPH, oksidasi xantin, lipoxysigenases dan cylooxgenases. Superoksida dapat mengalami proses dismutasi oleh enzim Superoksida Dismutase (SOD) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan O_2 (Aruoma, 1998).

- Hidrogen Peroksida (H_2O_2)

Hidrogen peroksida merupakan inisiator terbentuknya radikal hidroksil apabila terdapat ion logam melalui reaksi fenton. Dengan adanya aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) akan mengubah

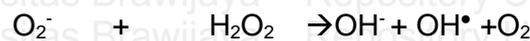


senyawa radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida merupakan senyawa toksik yang dapat menghasilkan radikal hidroksil (Sudiana, 2008)

- Radikal Hidroksil (OH)

Radikal hidroksil merupakan reaktif oksigen tertinggi yang memiliki waktu paruh dalam sel sekitar 10^{-9} detik. Pembentukan radikal hidroksil berasal dari hidrogen peroksida (H_2O_2) yang terjadi melalui reaksi Fenton didukung dengan adanya logam seperti Cu dan Fe. Radikal hidroksil ini bereaksi dengan lipid akan mengaktivasi proses peroksidasi lipid (LOOH). Adanya radikal hidroksil menyebabkan kerusakan oksidatif yang dapat memicu terjadinya keganasan atau kematian sel. Oleh karena itu reaksi dengan lipid pada membran sel harus segera dinetralkan, baik dengan enzim katalase maupun melalui proses glutathion (GSH) (Favier *et al.*, 1995).

1. Reaksi Haber Weiss



2. Reaksi Fenton



- 2) Eksogen

Sumber radikal bebas terbesar berasal dari luar tubuh seperti :

- Obat-obatan, anestesi, pestisida dan pelarut industri. Obat-obatan tertentu mengandung komponen *aminosalisilat* dapat menginaktivasi protease,



sedangkan asam askorbat dalam jumlah banyak dapat mempercepat peroksida lemak (Winarsi, 2007).

- Radiasi, radioterapi diperkirakan dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Radiasi elektromagnetik (sinar x, sinar gamma dan radiasi partikel (elektron, proton, neutron, alfa, beta) menghasilkan radikal primer dengancara memindahkan energinya ke komponen seluler seperti air. Selanjutnya radikal primer tersebut dapat mengalami reaksi sekunder dengan oksigen yang terurai atau dengan cairan seluler (Yuslianti, 2018). Sinar ultraviolet merupakan sumber pembentukan ROS karena dapat melisiskan air menjadi radikal hidroksil (OH).
- Asap rokok melepaskan enzim *mieloperoksidase* yang mengkatalisis perubahan Cl^- , I^- dan Br^- menjadi oksidan kuat. Oksidan di dalam rokok antara lain aldehida, epoksida, peroksida dan radikal bebas lainnya (Yuslianti, 2018).
- Bahan aditif dalam pangan Red E₁₂₀ dan asam karmiat akan membentuk senyawa radikal yang selanjutnya dapat berperan sebagai pencetus peroksidasi lipid sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan (Winarsi, 2007).

2.2.1 Senyawa Oksigen Reaktif (ROS)

Secara umum radikal bebas dibagi menjadi dua, yaitu *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) (Schloss and Viteta, 2014).

Dalam keadaan fisiologis tubuh manusia sudah menghasilkan ROS. Dengan kata lain ROS merupakan bagian dari radikal bebas yang merupakan hasil dari metabolisme sel normal. Apabila tubuh mengalami ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan fungsi *scavenger* enzimnya maka akan menyebabkan



terjadinya stres oksidatif. Scavenger enzim bersifat antioksidan yang bekerja mengeluarkan atau menghilangkan superoksida dan hidrogen peroksida. Peningkatan oksidan yang berlebihan akan memicu produksi ROS. Keadaan ROS yang lebih banyak daripada antioksidan dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Dalam keadaan normal oksigen berperan sebagai akseptor terakhir dari elektron yang kemudian bersama dengan $2H^+$ akan membentuk satu molekul H_2O . Namun pada keadaan tertentu oksigen dapat menjadi *toxic mutagenic gas*, yang dikenal juga dengan ROS. ROS merupakan senyawa oksigen yang bersifat reaktif. Senyawa ini dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu senyawa yang bersifat radikal (seperti radikal superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^-), radikal peroksil (RO_2^-) dan radikal hidroperoksil, nitrat oksida (NO). Selain itu juga dikelompokkan menjadi senyawa oksigen reaktif yang bersifat nonradikal (oksidan) seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), asam hipoklorat (HOCl), ozon (O_3), singlet oksigen (1O_2), dan peroxynitrit (ONOO) (Aruoma, 1998). Apabila ROS kadarnya lebih banyak dapat bereaksi dengan fosfolipid yang menyusun sistem membran dari sel (Sudiana, 2008).

2.2.2 Stres Oksidatif

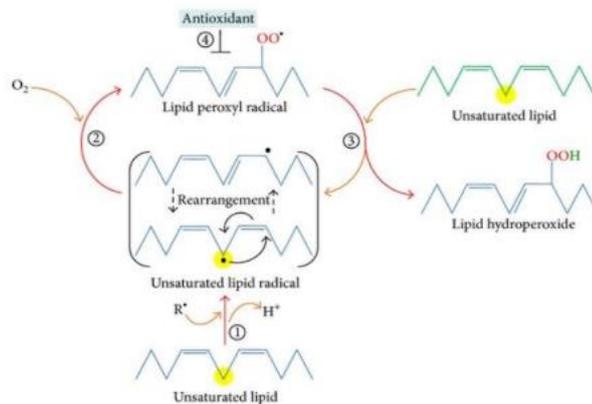
Pada keadaan sehat kadar prooksidan seimbang dengan kadar antioksidan di dalam tubuh. Dalam kondisi normal, adanya radikal bebas di dalam tubuh akan diimbangi dengan mekanisme pertahanan tubuh dengan cara memproduksi zat anti radikal. Namun pada keadaan tertentu dapat berubah menjadi tidak seimbang apabila spesies oksigen reaktif (ROS) atau radikal bebas kadarnya berlebihan karena tidak mampu ditanggulangi lagi oleh mekanisme pertahanan tubuh sendiri. Keadaan ini disebut juga dengan stress oksidatif. Spesies oksigen reaktif (ROS) mampu memodifikasi oksidatif struktur seperti



protein, lipid, DNA. Lipid pada membran sel sangat sensitif terhadap stres oksidatif. Stress oksidatif akan memicu terjadinya kerusakan oksidatif dengan cara menginduksi peroksidasi membran lipid. Dampak dari kerusakan oksidatif seperti digambarkan pada kerusakan biomolekul di dalam sel, gangguan fungsi biologis seperti homeostasis ion, aktivitas enzim, integrasi membran, dan fungsi sel (Yuslianti, 2018; Dalle *et al.*, 2006). Stress oksidatif yang meningkat dapat menyebabkan oksidasi lipid dan protein sehingga berhubungan dengan perubahan struktur dan fungsinya (Lobo *et al.*, 2010).

2.3 Peroksidasi Lipid

Radikal bebas akan menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid berantai. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lebih lanjut. Peroksidasi lipid diawali dengan pelepasan atom hidrogen atau penambahan radikal oksigen dengan jalan menyerang sisi rantai karbon metilen teraktivasi yang dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada PUFA. Dalam hal ini radikal lipid bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksil. Kondisi ini akan menginisiasi reaksi berantai yang terjadi pada asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) dan mengubahnya menjadi lipid hidroperoksida dan radikal baru. Asam lemak tak jenuh ganda lebih rentan daripada asam lemak yang jenuh karena metilen (RH) yang diaktifkan merupakan target yang sensitif (Repetto *et al.*, 2012). Lipid hidroperoksida bersifat tidak stabil dan mudah diurai menjadi produk sekunder seperti *malondialdehid* dan *aldehid* lainnya (Yuslianti, 2018). Peroksidasi lipid merupakan proses yang mengakibatkan terjadinya kerusakan susunan struktur membran sel. Peroksidasi lipid merupakan indikator adanya aktivitas radikal bebas.



Gambar 2. 2 Proses Peroksidasi Lipid (Lobo *et al*, 2010).

Pada fase inisiasi proses peroksidasi lipid, prooksidan akan membentuk radikal lipid. Selanjutnya pada fase propagasi radikal lipid tersebut akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal lipid peroksil, yang mengambil atom hidrogen dari molekul lipid lain sehingga membentuk radikal lipid baru dan lipid hidroperoksida. Pada tahap terminasi, antioksidan berperan dalam mendonorkan atom hidrogen pada radikal lipid peroksil sehingga terbentuk produk yang nonradikal (Yuslianti, 2018). Peroksida lipid dapat diukur dengan metode asam thiobarbituric reaktif (TBARS) dalam plasma, jaringan (Pasupathi *et al*, 2009; Kashinakunti *et al.*, 2011). Pada akhir reaksi peroksidasi lipid terbentuk produk seperti asam lemak terkonjugasi, hidroperoksida, aldehid (*malondialdehid*, 4-hidroksynonenal), isoprostone, hidrokarbon (etana dan penthana) (Lobo *et al*, 2010; Favier *et al.*, 1995).

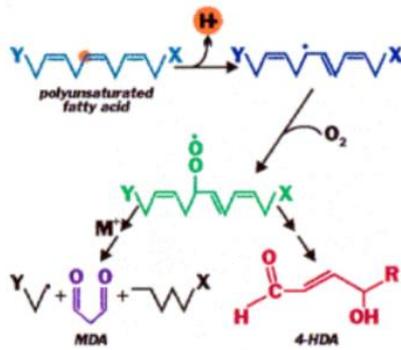
Pada penelitian Aydogan *et al* (2013) mengungkapkan bahwa ibu hamil yang merokok maupun terpapar asap rokok terdapat peningkatan stres oksidatif serta menginduksi proses peroksidasi lipid ditandai dengan meningkatnya kadar *malondialdehyde* (MDA). Hal tersebut juga diungkapkan dalam penelitian yang



membuktikan bahwa merokok dapat menginduksi peroksidasi lipid dan berisiko dalam perkembangan sel kanker (Naggama T *et al.*, 2011).

2.3.1 **Malondialdehyde (MDA)**

Malondialdehid (MDA) merupakan hasil produksi secara endogen dari proses peroksidasi lipid dan biosintesis prostaglandin yang memiliki efek mutagen dan sitotoksik (Caliskanca *et al.*, 2010). MDA adalah senyawa dialdehida atau berkarbon tiga yang reaktif dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. Kadar MDA di dalam tubuh dapat meningkat karena metabolisme tubuh meningkat akibat aktivitas yang meningkat. MDA dapat digunakan sebagai penanda terjadinya peroksidasi lipid karena lebih stabil dan memiliki waktu yang lebih lama (Repetto *et al.*, 2012). MDA bereaksi dengan asam thiobarbituric (TBA) kemudian diukur menggunakan alat spektrofotometer atau *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS). Tes TBA selain mengukur kadar MDA dari hasil peroksidasi lipid juga mengukur produk aldehid lainnya. Kadar MDA dapat diperiksa pada urine, plasma maupun jaringan. Penelitian Lykkesekdt *et al* (2004) mengemukakan bahwa kadar MDA plasma pada orang yang merokok lebih tinggi dibandingkan pada orang yang tidak merokok. Pernyataan tersebut juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Jaggy dan Yadav (2015) mengemukakan bahwa terjadi peningkatan dua kali lipat kadar MDA pada perokok ringan (1-5 batang/hari) dan peningkatan empat kali lipat pada perokok berat (>5 batang/hari) dibanding dengan yang bukan perokok.



Gambar 2. 3 Mekanisme Pembentukan MDA (Yustika., et al. 2013)

Pertumbuhan dan kelangsungan hidup janin tikus tergantung pada plasenta, yang berperan sebagai sirkulasi fetomaternal, memfasilitasi metabolisme, pertukaran gas, dan pembuangan hasil metabolisme janin. Selain itu plasenta juga menghasilkan hormon selama kehamilan dan sebagai barrier. Beberapa penelitian telah menunjukkan terdapat penurunan vaskularisasi plasenta karena asap rokok. Dalam penelitian Dewi, dkk (2017) mengemukakan bahwa pemberian suplemen antioksidan pada tikus dapat berfungsi dalam mengurangi peningkatan kadar MDA sehingga kemudian akan mempercepat eliminasi MDA.

2.4 Antioksidan

Dalam kondisi fisiologis tubuh terdapat sistem keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan yang dapat digunakan sebagai parameter kesehatan seseorang. Tubuh secara terus menerus menghasilkan radikal melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan zat gizi dan akibat pengaruh dari luar seperti asap rokok. Pada keadaan tersebut menyebabkan ketidakseimbangan antara prooksidan dan oksidan yang mengakibatkan peningkatan kadar ROS yang tidak mampu dikompensasi oleh tubuh, sehingga diperlukan senyawa antioksidan tambahan.



Antioksidan tambahan yang dapat menetralkan efek negatif dari ROS antara lain adalah vitamin C, vitamin E, asam urat, polyfenol (flavonoid) (Schloss and Viteta, 2014). Secara kimia antioksidan adalah senyawa pendonor elektron (elektron donor). Sedangkan secara biologis merupakan senyawa yang dalam kadar tertentu dapat menghambat atau meredakan efek negatif dari oksidasi dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidasi sehingga dapat menghambat aktivitas dari oksidasi tersebut. Oksidasi merupakan hasil bentukan dari radikal bebas dan zat reaktif yang bereaksi dengan O_2 (Sayudi dan Rina 2015). Keseimbangan antara prooksidasi dan antioksidasi sangat diperlukan dalam sistem kekebalan tubuh. Kondisi ini berperan dalam menjaga integritas dan fungsi membran lipid, protein sel, karbohidrat, asam nukleat serta mengontrol transkripsi sel dan ekspresi gen dalam sel imun. Asam lemak tak jenuh merupakan komponen terbesar dalam membran sel yang rentan terhadap ketidakseimbangan antara prooksidasi dan antioksidasi. Membran sel merupakan *barrier* penting dalam sel.

Secara umum antioksidasi dikelompokkan menjadi tiga, yaitu antioksidasi enzimatis (sistem pertahanan primer), non-enzimatis (sistem pertahanan sekunder) dan antioksidasi tersier.

1) Antioksidasi Primer atau antioksidasi Endogenus atau Antioksidasi Enzimatis

Antioksidasi enzimatis dapat berupa enzim (seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase), vitamin (seperti vitamin A, C, E, dan β -karoten), dan senyawa lain seperti flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin. Dikatakan antioksidasi primer apabila terdapat suatu senyawa yang memberikan atom hidrogen secara cepat kepada



senyawa radikal kemudian segera terbentuk menjadi senyawa yang lebih stabil. Dengan kata lain antioksidan primer bekerja dengan cara menghambat pembentukan atau mengubah menjadi molekul yang kurang reaktif. Enzim katalase bekerja dengan cara mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Enzim katalase bergantung pada Fe (besi). Glutation peroksidase mengkatalisis oksidasi. Aktivitas glutation peroksida membutuhkan selenium. Sedangkan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) membutuhkan logam Fe, Cu, Zn, dan Mn. SOD bekerja dengan cara mengkatalisis reaksi dismutasi dari superoksida menjadi hidrogen peroksida. Oleh karena itu hidrogen peroksida harus dihilangkan dengan katalase atau glutation peroksidase. Ada 3 bentuk superoksida dismutase dalam jaringan yaitu cuprum zinc superoksida dismutase (CuZn-SOD), Mangan Superoksida dismutase (MnSOD), dan Ekstraselular superoksida dismutase (ECSOD) (Young dan Wodside, 2001).

2) Antioksidan Sekunder atau Antioksidan non-enzimatis atau Antioksidan Eksogenus

Antioksidan pertahanan preventif ini umumnya berasal dari bahan makanan seperti sayuran, buah-buahan, biji-bijian, dan kacang-kacangan. Antioksidan jenis ini dibedakan menjadi dua jenis, yaitu antioksidan larut lemak dan antioksidan larut air. Antioksidan larut lemak seperti ubiquinon dan beta caroten. Sedangkan antioksidan yang larut air seperti ascorbat, albumin, asam urat, bilirubin, glutation dan derivat polifenol dan flavonoid yang berasal dari tanaman (Widayati, 2012). Senyawa antioksidan sekunder ini berperan menangkap senyawa oksidan serta mencegah



terjadinya reaksi berantai (Winarsi, 2007). Mekanisme kerja antioksidan non-enzimatik antara lain: Menangkap radikal bebas yang dilakukan oleh tokoferol, askorbat, glutathion, asam urat. Disamping itu protein pengikat logam transisi (seperti feritin, transferrin, laktoferin, dan seruloplasmin) berperan dalam meminimalkan ion besi (Fe^{2+}) dan ion tembaga (Cu^+) untuk mencegah pembentukan radikal hidroksil (Young dan Wodside, 2001).

3) Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier ini meliputi sistem enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase yang berfungsi memperbaiki biomolekuler yang rusak akibat radikal bebas yang reaktif. Mekanisme kerja antioksidan ini ada dua, yaitu berperan sebagai pendonor atom hidrogen dan memperlambat laju autooksidasi dengan mengubah radikal lipid menjadi bentuk yang lebih stabil (Musarofah, 2015).

Konsumsi antioksidan dalam jumlah yang memadai sangat penting dalam mempertahankan kualitas makanan, kesehatan dan kecantikan yaitu untuk mencegah penyakit kanker, tumor, penyakit degeneratif (seperti penyakit kardiovaskuler, aterosklerosis, osteoporosis) dan mencegah proses penuaan dini (Sayuti dan Rina 2015). Antioksidan juga dapat mencegah kerusakan dengan cara menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan merupakan inhibitor yang berperan penting dalam mencegah aktivitas peroksidasi lipid. Seseorang yang hidup dalam keadaan stres yang tinggi, pekerjaan yang melelahkan, bekerja dibawah paparan sinar matahari, asap rokok dan polusi udara memerlukan antioksidan yang optimal guna mencegah peningkatan radikal bebas yang berlebihan.



2.5 Apel (*Malus sylvestris* Mill)



Gambar 2. 4 Apel Manalagi *Malus sylvestris* Mill (Syekhfani, 2009)

2.5.1 Taksonomi Apel (*Malus sylvestris* Mill)

Kingdom	:	Plantae
Divisio	:	Spermatophyta
Sub Divisio	:	Angiospermae
Klas	:	Dicotyledone
Ordo	:	Rosales
Family	:	Rosaceace
Genus	:	Malus
Spesies	:	<i>Malus sylvestris</i> Mill (Sufrida <i>et al</i> , 2004)

2.5.2 Karakteristik Apel (*Malus sylvestris* Mill)

Tanaman apel merupakan salah satu jenis tanaman buah yang banyak dan mudah tumbuh didaerah tropis, termasuk di Indonesia. Tanaman apel tumbuh di daerah dengan ketinggian 700-1200 meter diatas permukaan laut. Jenis buah apel yang umumnya dibudidaya di Indonesia adalah Rome Beauty, Manalagi, Anna, Princess Noble, Wanglin, Apel Malang, Winter Banana, Sweet Caroline, dan Jonathan (Subagyo dan Achmad, 2010). Tanaman apel selain umum dikonsumsi juga kaya akan manfaat bagi kesehatan. Apel Manalagi memiliki ciri-ciri berbentuk bulat, kulit berpori putih, aromanya harum walaupun apel masih muda, umumnya



berwarna hijau dan hijau kekuningan, cita rasa manis, aromanya kuat dan sedap, bagian dagingnya renyah, sedikit air dan dagingnya berwarna putih, diameter buah antara 5-7 cm dan berat buah berkisar 75-100 gram (Sufrida, 2004; Hapsar dan Estiasih, 2015).

2.5.3 Kandungan Gizi

Tabel 2. 1 Kandungan Gizi Buah Apel dalam 100 gram (Subagyo dan Ahmad, 2010; Susanto dan Suneto, 1994)

Komponen	Jumlah	Komponen	Jumlah
Air (g)	84,10	Potassium (mg)	110,00
Kalori (Kal)	58,00	Vitamin A(IU)	90,00
Protein (g)	0,30	Vitamin B1 (mg)	0,04
Lemak (g)	0,40	Vitamin B2 (mg)	0,02
Karbohidrat (g)	14,9	Niacin (mg)	0,10
Kalsium (mg)	6,00	Vitamin C (mg)	5,00
Fosfor (mg)	10,00	Natrium (mg)	1,00
Besi (mg)	0,30		

2.5.4 Kandungan Zat Antioksidan

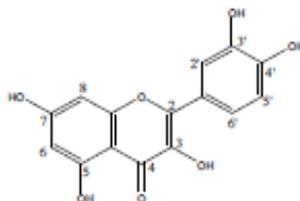
Salah satu jenis antioksidan buah apel adalah flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok terbesar antioksidan polifenol yang ditemukan dalam makanan seperti buah dan sayuran. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang diisolasi pada tanaman. Fungsi flavonoid antara lain sebagai antioksidan, antimikrobal, fotoreseptor, atraktor visual, dan skrining cahaya. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa senyawa flavonoid berperan sebagai antikarsinogenik, menghambat proliferasi sel tumor, mengurangi pembentukan radikal bebas, dan aktivitas biologis seperti antialergik, antiviral, dan antiinflamasi. Flavonoid dibentuk dari asam amino seperti fenilalanin, tirosin, dan malonat. Sampai saat ini telah diidentifikasi lebih dari 4000 jenis senyawa flavonoid (Young



dan Woodside, 2001). Klasifikasi flavonoid didasarkan pada tingkat oksidasi struktur dan pola substansi pada cincin C. Klasifikasi flavonoid pada umumnya meliputi flavon (apigenin), flavanon (quersetin dan kaempferol), isoflavon (genistein), flavanol (katekin), flavanonol, flavan-3-ol dan antosianidin. Salah satu sumber makanan yang mengandung antioksidan adalah apel. Dalam penelitian Wolfe dan Liu (2003) mengemukakan bahwa kandungan fenolik kulit apel lebih banyak dibandingkan pada daging buah apel serta memiliki aktivitas antioksidan dan bioaktivitas yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan di dalam strukturnya terdapat o-hidroksi dalam cincin B yang akan meningkatkan kestabilan bentuk radikal bebas. Kandungan fenolik dalam kulit apel antara lain asam fenolat/asam klorogenat, flavonoid yaitu flavan (katekin), prosianidin, flavanol (quercetin glikosida), kalkon (florein glikosida) dan antosianin (cyanidin glikosida) (Golding *et al.*, 2001). Kandungan antioksidan kulit apel terbesar adalah quercetin. Senyawa quercetin dalam 100 gram buah apel sekitar 4,42 mg aglikon quercetin dan 13,2 mg glikosida. Quercetin merupakan salah satu golongan flavonoid yang dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa penyakit degeneratif dengan cara mencegah proses peroksidasi lipid dan mengaktifasi enzim-enzim antioksidan (Coskun *et al.*, 2004). Dalam hal ini quercetin berperan sebagai penangkal radikal bebas dan spesi oksigen reaktif (seperti anion superoksida dan radikal hidroksil) serta menghelat ion logam transisi. Mengonsumsi quercetin memiliki dampak positif bagi kesehatan antara lain untuk antiinflamasi sebagai proteksi terhadap dislipidemia dan mencegah peningkatan kejadian penyakit kardiovaskuler (Ventianingsih *et al.*, 2016). Kandungan quercetin pada setiap buah tergantung pada varietas, proses pengolahan, kondisi pertumbuhan, nutrisi tanaman, dan lama penyimpanan (Cempaka *et al.*, 2014).



Mekanisme aksi senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan yaitu: pertama, menghambat enzim yang berhubungan dengan reaksi produksi anion superoksida (misalnya xantin oksidase dan protein kinase) dan menghambat kerja siklooksigenase, lipoksigenase, mikrosomal monooksigenase, glutation S-transferase, mitokondial suksinoksidase, dan NADPH oksidase. Kedua berperan mengikat logam kelumit seperti ion besi bebas dan tembaga bebas karena dapat meningkatkan pembentukan ROS. Ketiga, flavonoid (FI-OH) mempunyai nilai potensial reduksi yang rendah sehingga mudah mereduksi radikal superoksida, peroksil, alkoksil, dan hidroksil. Mekanisme ini dengan cara mendonorkan atom (H^+) untuk menghentikan peroksidasi lemak yang terjadi karena radikal hidroksil yang menyerang rantai karbon PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acids*).



Gambar 2. 5 Struktur Kimia Quersetin (Gusdinar *et al.*, 2009)

2.6 Plasenta

Organ sementara selama kehamilan yang menghubungkan antara ibu dan janin adalah plasenta. Plasenta merupakan organ yang memfasilitasi pertukaran nutrisi dan gas antara sirkulasi ibu dan janin. Plasenta memiliki mekanisme khusus dalam menunjang pertumbuhan dan ketahanan hidup janin. Komponen janin pada plasenta berasal dari trofoblas dan mesoderm ekstraembrional (lempeng korion) dan komponen ibu berasal dari endometrium uterus. Pada awal bulan kedua, trofoblas ditandai dengan sejumlah besar vilus sekunder dan tersier dimana pada sisi embrional vilus tampak lebih banyak dan sempurna dibandingkan pada sisi abembrional. Seiring dengan kemajuan kehamilan vilus disisi embrional terus



tumbuh dan meluas membentuk korion frondosum. Sedangkan vilus disisi abembrional mengalami degenerasi pada bulan ketiga akan tampak licin yang disebut dengan korion laeve. Vilus berkembang dari mesoderm ekstraembrional menuju selubung sitotrofoblas. Permukaan vilus dibentuk oleh sinsitium yang nantinya akan membungkus inti mesoderm vaskular. Sistem vaskular embrional dibentuk oleh sistem kapiler yang terhubung dengan kapiler lempeng korion dan tangkai penghubung. Pada awal bulan keempat, sel-sel sitotrofoblas dan beberapa sel jaringan ikat menghilang, pada saat ini yang menjadi pemisah sirkulasi ibu dan janin adalah sinsitium dan dinding endotel pembuluh darah. Umumnya sinsitium akan menjadi sangat tipis dan potongan sinsitium yang mengandung nukleus akan terlepas masuk ke dalam darah antarvilus. Potongan ini akan mengalami degenerasi dan masuk kedalam sirkulasi ibu. Semakin meningkatnya kemajuan kehamilan, korion laeve akan menempel dengan dinding uterus (desidua parietalis). Sedangkan korion frondosum merupakan satu-satunya korion yang berperan dalam proses pertukaran yang bersama-sama dengan desidua basalis membentuk plasenta. Karena pertumbuhan janin dan perluasan uterus secara terus menerus plasenta akan membesar. Sedangkan bertambahnya ketebalan plasenta dikarenakan percabangan vilus yang masih ada. Plasenta umumnya mencapai pembentukan lengkap pada usia kehamilan sekitar 26 minggu (Sadler, 2013; Fitri, 2017).

2.6.1 Fungsi Plasenta

Fungsi utama plasenta ada 2 yaitu sebagai produksi hormon serta tempat pertukaran produk metabolik antara darah ibu dan janin.

a. Fungsi Respirasi



Pertukaran gas (oksigen, karbondioksida, dan karbon monoksida) antar ibu dan janin berlangsung melalui proses difusi. Aliran darah plasenta sangat penting untuk suplai oksigen karena jumlah oksigen yang sampai ke janin ditentukan oleh penyalurannya, bukan difusinya. Saat usia kehamilan aterm, janin menyerap 20 hingga 30 ml oksigen per menit dari sirkulasi ibu. Plasenta sebagai pengeluaran atau pembuangan gas CO₂ yang berdifusi dari darah janin ke darah ibu. Dengan demikian plasenta disebut sebagai paru-paru janin (Farrer, 1999).

b. Fungsi Ekskresi

plasenta berperan dalam pengeluaran sampah metabolisme atau produk limbah kemudian akan dikembalikan ke peredaran darah maternal lewat villi korionik. Seperti produk yang mengandung nitrogen dan nutrien, serta bilirubin (hasil pemecahan sel darah merah) (Farrer, 1999).

c. Fungsi Proteksi

Sebagai barier proteksi plasenta berfungsi untuk melindungi terhadap bakteri serta perlindungan parsial terhadap infeksi. Plasenta juga berfungsi untuk mentransfer antibodi dari ibu ke sirkulasi tubuh janin yang dapat bertahan hingga beberapa bulan setelah lahir. Sayangnya, mikroorganisme tertentu seperti virus masih ada kemungkinan untuk menembus barier plasenta. Selain itu obat-obatan tertentu seperti jenis acetaminophen (tylenol) dan warfarin (antikoagulan) juga mampu menembus plasenta. Plasenta dapat mencegah pertukaran logam toksik ke janin (seperti kadmium), namun tidak mampu mencegah paparan logam lainnya seperti timah hitam dan merkuri. Plasenta juga berfungsi sebagai stabilisasi, dimana villi korion masuk ke desidua sangat dalam



sehingga menambatkan plasenta dengan erat (Hani *et al*, 2010; Jumiarni dkk, 1994)

e. Fungsi Endokrin

Sebagai fungsi endokrin plasenta memproduksi hormon di sinsitotrofoblas seperti hormon protein, hormon chorionic gonadotropin (hCG), human plasental laktogen (hPL), estriol dan estrogen. Dalam dua bulan awal kehamilan plasenta menghasilkan human chorionic gonadotropin (hCG) yang merangsang korpus luteum gravidarum hormon ini dieksresikan kedalam urine ibu sebagai penanda kehamilan. Puncaknya tercapai pada hari ke-60 dan berangsur menurun, sehingga saat persalinan tidak dijumpai lagi dalam urine ibu. Pada akhir bulan keempat plasenta mulai menghasilkan hormon progesteron guna mempertahankan kehamilan apabila korpus luteum diangkat atau gagal mempertahankan fungsinya dengan baik, menjaga stabilitas otot rahim selama kehamilan, menghalangi pengeluaran LH, menghalangi pematangan de Graaf sehingga tidak terjadi ovulasi. Bersama dengan hormon estrogen mengaktifkan tubulus dan alveolus payudara. Plasenta juga memproduksi hormon estrogen terutama estriol dalam merangsang pertumbuhan otot uterus, perkembangan kelenjar mammae, sintesis protein, dan retensi air dan garam. Selain estrogen plasenta juga memproduksi hormon somatomotropin (laktogen plasenta) yang substansinya mirip hormon pertumbuhan untuk metabolisme protein dan memprioritaskan glukosa darah ibu untuk janin serta mendorong perkembangan payudara untuk menghasilkan ASI (Sadler, 2013).

f. Fungsi Imunitas



Transmisi imunologis mulai berkembang diakhir trimester pertama.

Imunoglobulin hampir seluruhnya terdiri dari imunoglobulin G (IgG) dari ibu yang mulai disalurkan pada minggu ke-14. Oleh karena itu janin memperoleh imunitas pasif terhadap serangan infeksi. Ketika bayi baru lahir sudah mulai memproduksi IgGnya sendiri, namun belum mencapai kadar dewasa sebelum usia 3 tahun (Sadler, 2013).

2.7 Tikus

2.7.1 Gambaran Umum Tikus

Salah satu hewan coba yang populer digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Ada tiga jenis galur untuk tikus putih, yaitu tikus putih galur Sprague Dawley, Long Evans, dan Wistar. Karakteristik dari tikus putih ini adalah warna kulitnya albino, ekor lebih panjang dari badannya, kepala kecil, pertumbuhan cepat, kemampuan laktasi tinggi, bertemperamen baik. Umur dewasa tikus dicapai saat 3-4 bulan. Perkembangbiakan tikus ini tergolong cepat dengan hasil banyak yang mampu menghasilkan 6-12 ekor anak. Dalam satu masa pembuntingan tikus memerlukan waktu 21-22 hari dengan berat lahir antara 5-6 gram, dan kecepatan tumbuh 5 gram/hari. Sifat reproduksi tikus menyerupai mamalia besar yang memiliki interval generasi pendek dan berukuran kecil sehingga memudahkan dalam hal pemeliharaan dan perawatannya. Kondisi ruang untuk pemeliharaan hewan coba harus senantiasa bersih, kering dan tidak bising dengan suhu ruang berkisar 18-19 derajat celcius serta kelembaban udara antara 30-70%. Rata-rata usia mulai kawin tikus minimal usia 8 minggu yang dilakukan pada masa estrus. Dimana siklus estrus merupakan fisiologis tikus betina dengan ciri-ciri khusus yang ditandai dengan keinginan untuk kawin. Siklus estrus berlangsung selama 4-5 hari dan segera sesudah beranak (post-partum estrus).



Siklus estrus pada tikus terjadi secara berulang dan membentuk suatu siklus sebagai aspek reproduksi yang menggambarkan adanya perubahan hormon reproduksi karena pengaruh aktivitas ovarium. Siklus ini dapat diamati dengan papsmear (ulas vagina) untuk melihat perubahan sel-sel penyusun lapisan epitel vagina (Akbar,2010; Samsuria, 2009).

2.7.2 Taksonomi

Taksonomi tikus putih adalah sebagai berikut :



Gambar 2. 6 Tikus *Rattus norvegicus* (Akbar, 2010)

Kingdom	:	Animalia
Filum	:	Chordata
Kelas	:	Mamalia
Ordo	:	Rodentia
Famili	:	Muridae
Genus	:	Rattus
Spesies	:	<i>Rattus norvegicus</i> (Akbar, 2010)

2.7.3 Perkembangan Embriologi Tikus

Tikus dalam periode satu tahun terjadi siklus reproduksi yang berulang-ulang, oleh karena itu disebut dengan hewan poliestrus. Untuk mendapatkan tikus bunting diperlukan pengawinan antara tikus jantan dan betina yang dilakukan pada masa estrus tikus betina. Tikus jantan dimasukkan ke dalam satu kandang dengan tikus betina selama satu malam. Fase estrus merupakan fase setelah proestrus yang ditandai dengan keinginan kawin dan penerimaan pejantan oleh tikus betina



untuk kopulasi apabila secara psikologis maupun fisiologis sudah bersedia menerima. Fase ini berlangsung sekitar 12 jam dan lebih sering pada malam hari daripada siang hari. Pada fase ini folikel de graaf membesar dan matang, serta ovum mengalami perubahan kearah pematangan. Terjadi peningkatan hormon estrogen yang mengakibatkan aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggungnya lordosis. Proses ovulasi hanya terjadi pada fase ini. Gambaran epitel pada fase ini ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti. Sel-sel mengalami kornifikasi yaitu sel epitel mengalami penandukan dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar (Akbar, 2010). Kehamilan tikus umumnya terjadi selama 21 - 22 hari. Penetapan hari pertama tikus betina bunting dapat dilihat dengan apusan vagina yang mengandung sejumlah sperma, selain itu juga ditemukan sumbatan vagina. Sumbatan vagina umumnya berupa air mani yang menjendal berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan. Fertilisasi (pembuahan) merupakan proses penyatuan atau peleburan gamet jantan dan gamet betina sehingga terbentuk zigot. Pembuahan tikus akan terjadi 7-10 jam sesudah kopulasi. Sistem reproduksi tikus menerima telur hasil ovulasi dan menerima sperma selanjutnya dibawa ke tempat fertilisasi (oviduk). Ketika terjadi kopulasi maka sperma tikus jantan akan masuk menuju oviduk bagian ampula, yang dibantu oleh adanya gerak antiperistaltik saluran reproduksi dan silia dari uterus dan oviduk tikus betina. Pembelahan sel terjadi pada 24 jam pertama setelah pembuahan. Pembelahan terjadi secara cepat dan berulang-ulang. Menjelang hari kedua setelah pembuahan embrio terbentuk menjadi morula 16 sel, setelah itu embrio akan menuju ke uterus dalam keadaan berkelompok. Kemudian embrio akan menyebar dengan jarak tertentu untuk berimplantasi. Pada tahap akhir pembelahan embrio akan mencapai stadium



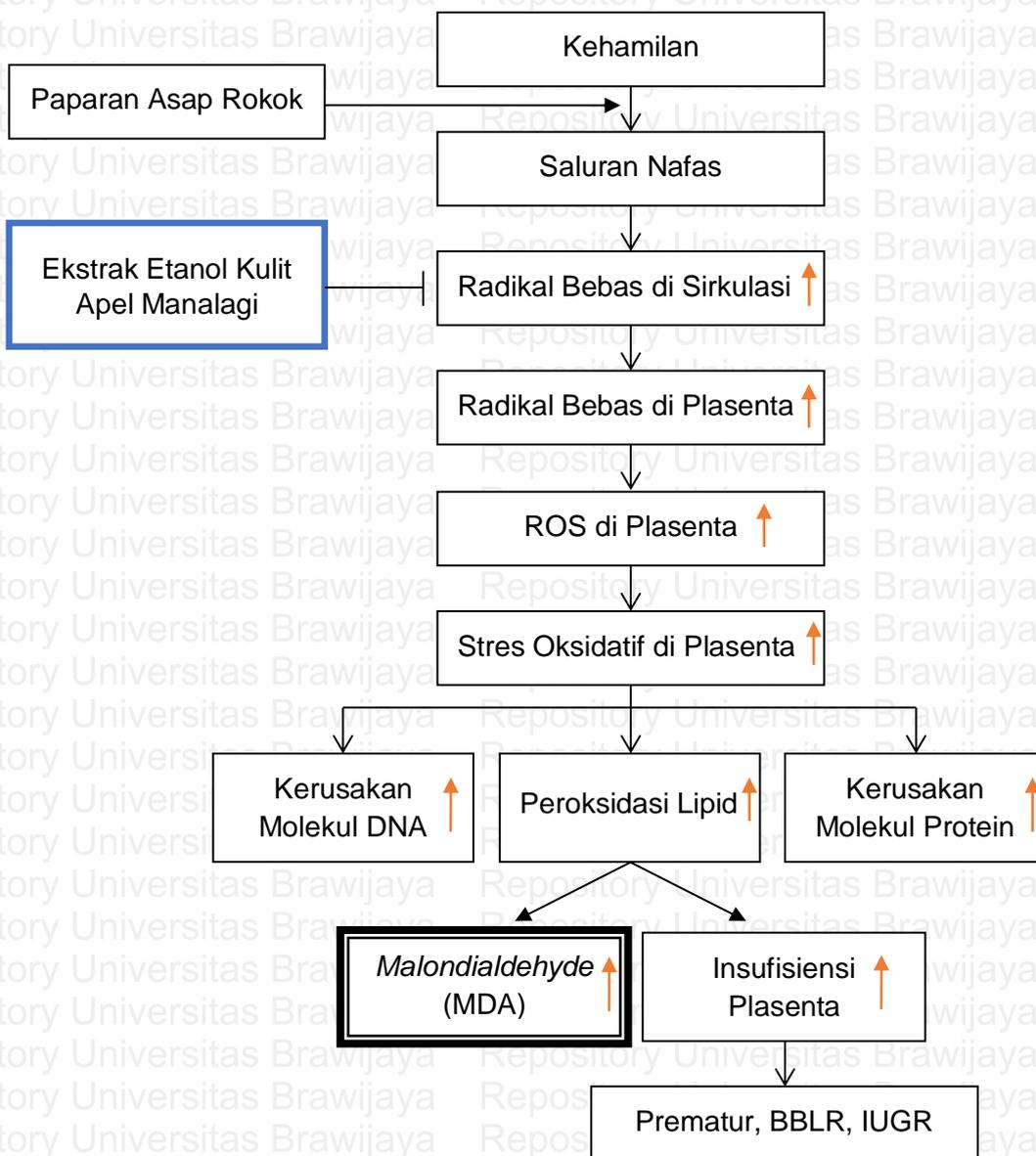
blastula dalam waktu 3-5 hari. Pada kehidupan awal blastokis, masih mengapung pada lumen uterus dengan memperoleh nutrisi dari kelenjar uterus. Implantasi diawali dengan menempelnya trofoblas yang menutupi inner cell mass. Kemudian embrio akan berimplantasi di dalam endometrium uterus non glandular (crypta). Pada tikus implantasi terjadi pada hari kebuntingan 4 - 6 hari. Blastula akan membentuk trophoblast yang berkembang menjadi plasenta. Selain itu juga membentuk massa sel dalam yang akan berkembang menjadi epiblast yang akan menjadi embrio dan hipoblast akan menjadi selaput ekstra embrio. Proses pembentukan organ berasal dari lapisan ectoderm, mesoderm, endoderm dan derivat-derivatnya (Akbar, 2010; Widodo, 2006).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

Variabel yang diteliti

Menghambat

Gambar 3. 1 Kerangka Konsep Penelitian



Asap rokok merupakan sumber oksidan yang berbahaya bagi tubuh. Asap rokok mengandung zat yang berbahaya seperti tar, nikotin, dan karbon monoksida. Paparan asap rokok akan masuk ke dalam sirkulasi, jaringan dan organ sehingga dapat meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas yang berlebihan akan memicu produksi ROS. Apabila hal ini terjadi secara terus menerus maka tubuh tidak mampu mengkompensasi. Keadaan ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan di dalam tubuh menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif akan memicu terjadinya kerusakan oksidatif. Target utama radikal bebas adalah molekul protein, DNA dan molekul yang paling rentan yaitu asam lemak tak jenuh. Dengan adanya radikal bebas dari paparan asap rokok yang dapat menembus barrier plasenta, maka akan menyebabkan terjadi peningkatan peroksidasi lipid pada plasenta. Pada akhir reaksi peroksidasi lipid ini akan terbentuk produk *malondialdehyde* (MDA). MDA dapat digunakan sebagai indikator atau penanda untuk menilai terjadinya peroksidasi lipid di plasenta. Apabila proses peroksidasi lipid dalam tubuh meningkat maka akan berdampak terhadap kehamilan maupun janin dalam kandungan seperti gangguan pertumbuhan janin, kelahiran prematur dan berat badan lahir rendah.

Kulit apel manalagi mengandung antioksidan lebih banyak dibandingkan pada daging buahnya. Kulit apel banyak mengandung quersetin. Quersetin berperan sebagai antioksidan dalam mengurangi pembentukan radikal bebas dan sebagai pemadaman radikal bebas. Dengan diberikannya ekstrak etanol kulit apel secara per oral maka akan diabsorpsi di sirkulasi. Di sirkulasi kandungan antioksidan dari ekstrak etanol kulit apel akan mencegah peningkatan radikal bebas. Kemudian di distribusikan ke organ salah satunya yaitu plasenta. Hal ini



memungkinkan ekstrak etanol kulit apel dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus bunting yang di papar asap rokok.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris Mill*) dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan *True Experimental Design* atau Eksperimental Murni dengan rancangan *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Penelitian hanya dilakukan sesudah perlakuan (*post test*) dengan membandingkan kadar *malondialdehyde* (MDA) plasenta antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* bunting yang diberikan perlakuan paparan asap rokok kretek. Hewan coba akan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Tiap kelompok terdiri dari 5 tikus betina.

- Kelompok kontrol negatif (K-) : tanpa paparan asap rokok dan tanpa ekstrak kulit apel
- Kelompok kontrol positif (K+) : dipapar asap rokok 1 batang/hari selama 7,5 menit dan tanpa diberikan ekstrak kulit apel
- Kelompok perlakuan (P1, P2, P3) : kelompok perlakuan dipapar asap rokok 1 batang/hari selama 7,5 menit dan diberikan ekstrak kulit apel dengan dosis yang berbeda: 7 mg/kgBB/hari; 14 mg/kgBB/hari, dan 28 mg/kgBB/hari. Pemberian ekstrak etanol kulit apel dilakukan bersamaan dengan pemaparan asap rokok.

4.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus jenis *Rattus norvegicus* bunting sebagai hewan coba. Tikus diperoleh dan dipelihara di Laboratorium Farmakologi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Estimasi jumlah sampel pada penelitian ini adalah :

Jumlah pengulangan (n) pada setiap perlakuan (p) dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut (Solimun, 2001) :

$$P(n-1) \geq 15$$

P : jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan dan n harus bilangan bulat

Sehingga :

$$P(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan dari hasil perhitungan tersebut maka diperoleh data minimal 4 kali pengulangan untuk masing-masing kelompok. Dalam penelitian ini digunakan 5 sampel untuk masing-masing kelompok. Sehingga keseluruhan jumlah ekor tikus dalam penelitian ini adalah $5 \times 5 = 25$ ekor.

4.2.1 Kriteria Inklusi

- Tikus betina spesies *Rattus norvegicus* galur wistar bunting
- Tikus dalam keadaan sehat ditandai dengan pergerakan aktif dengan nafsu makan baik.
- Usia tikus 8-12 minggu.
- Berat badan antara 150-200 gram



4.2.2 Kriteria Eksklusi

- Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung
- Terlalu cepat melahirkan (prematuur)

4.2.3 Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel

Penentuan subyek dalam penelitian ini menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dalam pengelompokan dan pemberian perlakuan dengan teknik randomisasi sederhana. Mengingat hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian lainnya adalah homogen maka setiap hewan coba mempunyai peluang yang sama untuk berkesempatan sebagai sampel pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1) Variabel bebas/independen

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah

Kandungan dalam paparan asap rokok kretek dan ekstrak etanol kulit apel manalagi dalam 3 dosis.

2) Variabel tergantung/dependen

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar *Malondialdehid* (MDA) pada plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilakukan kurang lebih selama 2 bulan dan dilanjutkan dengan pengolahan dan menganalisa hasil yang didapat.

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan dan Alat Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Makanan yang diberikan merupakan pakan standar berupa pelet BR1 serta minuman berupa air.
- b. Alat pemeliharaan hewan coba berupa kandang tikus yang berupa box plastik berukuran 45 x 35 x 12 cm sebanyak 5 buah dengan masing-masing kandang ditempati 5 ekor tikus bunting. Kandang diisi dengan sekam sebagai alas dan ditutup dengan kawat berjaring.

4.5.2 Bahan dan Alat Perlakuan Hewan Coba

- a. Bahan perlakuan hewan coba antara lain asap rokok yang dipaparkan berasal dari rokok kretek dan ekstrak etanol kulit apel (*Mallus sylvestris mill*) sebagai bahan penelitian yang didapatkan di daerah Bumiaji, kota Batu Malang.
- b. Alat pemberian ekstrak kulit apel pada tikus secara peroral menggunakan spuit tanpa jarum 3 ml dan sonde.

4.5.3 Bahan dan Alat Pembedahan dan Pengambilan Plasenta Tikus

- a. Bahan pembedahan hewan coba menggunakan obat anastesi ketamin 0,1 cc.
- b. Alat pembedahan dan pengambilan hewan coba antara lain wadah tempat plasenta, *tissue*, scalpel, gunting, pinset, jarum pentul, alas kayu/ papan untuk meja operasi, sarung tangan.

4.5.4 Bahan dan Alat Pengukuran MDA

- a. Bahan pemeriksaan MDA adalah TCA (Tri Chloride Acetil Acid) 10% 250 μ L, HCL 250 μ L, Na Thiobarbituric Acid 1.34% 200 μ L, PBS, Aquades, dan Plasenta.





- b. Alat pengukuran kadar MDA menggunakan tabung reaksi, pipet, micropipette, timbangan analitik, mortal dingin, tabung mikro, *centrifuge*, water bath, spektrofotometer, vortex, penjepit, gunting.

4.5.5 Alat Penimbangan Berat Badan Tikus

Neraca digital analitik (gram).

4.5.6 Alat Pembuatan Ekstrak Kulit Apel

Alat pembuatan ekstrak etanol kulit apel menggunakan pisau, wadah, *oven*, *blender*, timbangan, kertas saring, *rotary evaporator*, botol kaca atau plastik, *freezer*.

4.5.7 Alat untuk Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba

Smoking pump buatan Laboratorium Farmakologi FKUB, alat ini berupa kotak yang dibuat dari *fiberglass*, terdiri dari tiga ruangan yang masing-masing berukuran 26 x 12 x 12 cm. Dan terdapat pipa untuk mengalihkan asap rokok. Ketiga pipa keluar menyatu dengan pipa yang dipasang rokok. Dalam pipa ini juga terdapat pompa yang berfungsi penghisap asap rokok dan bekerja dibantu dengan adanya adaptor. Kemudian terdapat dua klep yang dapat terbuka dan tertutup secara otomatis saat penghisapan dan penutupan asap rokok keluar atau masuk kotak.

4.6 Definisi Operasional

- a. Hewan Coba

Hewan coba adalah tikus betina (*Rattus norvegicus*) galur wistar bunting usia 8-12 minggu, mempunyai berat sekitar 150-200 gram dan sedang bunting.



b. Tikus Bunting

Tikus bunting adalah tikus betina yang telah dikawinkan dengan tikus jantan dan memperlihatkan tanda-tanda kebuntingan yang terdapat sumbatan vagina (*vaginal plaque*). Abdomen pada tikus bunting, dapat dipalpasi pada hari ke-10 kebuntingan, namun palpasi akan lebih akurat dilakukan pada hari ke-12 kebuntingan.

c. Usia Kebuntingan Tikus

Usia kebuntingan tikus adalah dihitung dari munculnya sumbatan vagina (*vaginal plaque*) sampai hari ke-18.

d. Asap Rokok

Pemaparan asap rokok mulai hari ke-6 kehamilan sampai hari ke-18 yang dipaparkan memakai peralatan *smooking pump* buatan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Paparan asap rokok kretek diberikan 1 kali dalam sehari selama 7,5 menit.

e. Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi

Ekstrak etanol kulit apel manalagi yang diproses dengan dicuci, dioven, dan diberi bahan lainnya. Jenis apel yang digunakan adalah apel *Malus sylvestris Mill* yang mudah dijumpai khususnya di daerah Batu Malang.

f. Kadar MDA

Merupakan produk hasil peroksidasi asam lemak sebagai indikator terjadinya stres oksidatif dikarenakan antioksidan di dalam tubuh tidak mampu mengimbangi tingginya oksidan. *Malondialdehyde*



(MDA) pada plasenta diukur menggunakan metode TBA (*Thiobarbituric acid*) dengan menggunakan alat spektrofotometer (Pasupathi *et al*, 2009).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi dilakukan minimal selama 1 minggu dan diberikan pakan dan minum standar untuk menyesuaikan diri dengan makanan dan suhu lingkungannya.

4.7.2 Prosedur Pemeliharaan Tikus

Hewan coba dipelihara dan di aklimatisasi dalam laboratorium minimal selama 1 minggu pada temperatur ruangan. Untuk tempat hewan coba digunakan kandang yang masing-masing berisi 5 tikus, ditutup dengan kawat dan diberi alas sekam yang diganti 2 kali dalam seminggu. Porsi makan tikus adalah \pm 40gr/hari/kandang.

4.7.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Dari 25 ekor sampel hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan secara randomisasi yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus dengan rincian sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol negatif (K-)

Tikus bunting yang tanpa dipapar asap rokok dan tanpa diberikan ekstrak kulit apel.

2. Kelompok kontrol positif (K+)

Tikus bunting yang hanya dipapar asap rokok tanpa diberikan ekstrak kulit apel.

3. Kelompok perlakuan 1 (P1)



Tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak kulit apel dengan dosis 7 mg/kgBB/hari.

4. Kelompok perlakuan 2 (P2)

Tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak kulit apel dengan dosis 14 mg/kgBB/hari.

5. Kelompok perlakuan 3 (P3)

Tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak kulit apel dengan dosis 28 mg/kgBB/hari.

4.7.4 Prosedur Pembuntingan hewan coba

Waktu kawin tikus dilakukan pada masa estrus yang merupakan fase yang ditandai dengan keinginan untuk kawin dan penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk kopulasi. Pengawinan dilakukan dengan pencampuran hewan jantan dan betina dengan perbandingan 1:1 dalam satu kandang. Tikus jantan dimasukkan dalam kandang betina pada siang hari dan dipisahkan kembali keesokan harinya. Apabila keesokan harinya ditemukan vaginal plaque maka hari tersebut dihitung sebagai hari pertama kebuntingan. Tikus yang telah bunting diberi label kemudian dimasukkan dalam kelompok yang telah ditentukan dan selanjutnya akan mendapat perlakuan, sedangkan yang belum bunting dilakukan pembuntingan kembali dengan tikus jantan.

4.7.5 Prosedur Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba

Pemaparan tikus dilakukan pada hari ke-6 hingga hari ke-18 kebuntingan. Pemaparan menggunakan asap rokok dengan bantuan alat *smooking pump* buatan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Prosedur pemaparan asap rokok pada tikus adalah sebagai berikut (standar pemaparan asap rokok FKUB) :



- a. Tikus ditimbang berat badannya dengan neraca digital analitik sebelum dipapar asap rokok
- b. Tempat pemaparan dibersihkan dari kotoran dan sisa asap rokok
- c. *Smoking pump* dibersihkan terlebih dahulu
- d. *Power* dan *self voltage* diperiksa
- e. Rokok dipasang pada pipa sampai batas merah
- f. Tiga ekor dimasukkan kedalam kotak dan segera ditutup, karena pada *smoking pump* hanya tersedia tiga ruangan,
- g. Setiap pemaparan asap rokok dilakukan selama 7,5 menit untuk 1 batang rokok, kemudian alat dimatikan, tutup dibuka dan selanjutnya tikus segera dipindahkan ke kandang semula.
- h. Setiap pemaparan berikutnya kotak selalu dibersihkan dahulu dari sisa asap rokok perlakuan sebelumnya.
- i. Pompa tetap dijalankan tanpa rokok untuk mengeluarkan sisa asap.
- j. Tahap-tahap diatas diulangi untuk kelompok tikus berikutnya.

4.7.6 Prosedur Pembuatan Ekstrak Kulit Apel

- a. Mencuci kulit apel (*Malus sylvestris*) kemudian diambil kulitnya menggunakan *multi purpose knife*.
- b. Selanjutnya, potong kecil-kecil.
- c. Setelah itu, dioven pada suhu 40⁰ - 60⁰ C atau dikeringkan dengan panas matahari hingga diperoleh kulit apel (*Malus sylvestris*) kering.
- d. Kemudian kulit yang sudah kering diblender dan diayak sampai menjadi bubuk halus.
- e. Bubuk halus ditimbang sebanyak 100 gram selanjutnya direndam etanol 900 ml sampai dengan 1000 ml.



- f. Lalu dikocok selama 30 menit dan direndam satu malam sampai mengendap.
- g. Kemudian diambil lapisan paling atas yang merupakan campuran etanol dan zat aktif.
- h. Lakukan langkah f dan g sebanyak tiga kali.
- i. Kemudian dimasukkan ke labu evaporasi satu liter yang sudah dipasangkan ke alat evaporator.
- j. *Water bath* diisi air sampai penuh dan suhunya diatur hingga 90 °C atau sesuai dengan titik didih pelarut.
- k. Kemudian semua rangkaian alat dipasang dan disambungkan dengan aliran listrik.
- l. Pelarut dibiarkan terpisah dengan zat aktif,
- m. Aliran pelarut dibiarkan sampai berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5 - 2$ jam),
- n. Setelah itu didapatkan hasil ekstraksi kira-kira 1/5 bagian dari bahan kering,
- o. Hasil ekstraksi berupa solid dimasukkan ke botol plastik atau kaca dan disimpan di dalam *freezer*.

4.7.7 Penentuan Dosis Ekstrak Kulit Apel

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suparmi dkk (2014) mengenai uji aktivitas ekstrak etanol kulit buah apel (*pyrus malus*, l) terhadap penurunan permeabilitas vaskuler pada mencit putih jantan strain balb/c mengemukakan bahwa ekstrak kulit apel mampu menurunkan permeabilitas vaskuler berturut-turut sebesar 0,2; 0,4 dan 0,8 mg/20g BB mencit peoral. Dari hasil penelitian tersebut maka peneliti mengkonversi dosis tersebut ke tikus berdasarkan tabel konversi oleh Laurence & Bacharach, 1964) dengan berat 200 g dengan cara dikalikan

dengan 7, maka didapatkan perhitungan sebagai berikut $0,2 \text{ mg}/20\text{gBB} \times 7 = 1,4 \text{ mg}/200\text{gBB}$ atau $7\text{mg}/\text{KgBB}$; $0,4 \text{ mg}/20\text{gBB} \times 7 = 2,8 \text{ mg}/200\text{gBB}$ atau $14 \text{ mg}/\text{KgBB}$, $0,8 \text{ mg}/20\text{gBB} \times 7 = 5,6 \text{ mg}/200\text{gBB}$ atau $28 \text{ mg}/\text{KgBB}$.

4.7.8 Prosedur Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel pada Hewan Coba

Ekstrak etanol kulit apel diberikan mulai hari ke-6 kebuntingan sampai hari ke-18 kebuntingan. Ekstrak etanol kulit apel diberikan peroral menggunakan sonde dan *sprit* 3 ml. Pemberian ekstrak etanol kulit apel diberikan setelah dipapar asap rokok pada hari yang sama.

4.7.9 Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Plasenta

Pada hari ke-19 dilakukan pembedahan. Sebelum dibedah tikus diterminasi dengan injeksi ketamin 0,1 cc pada paha secara IM. Kemudian dibedah dan diambil organ plasentanya. Plasenta ditampung dalam wadah selanjutnya dibawa ke laboratorium farmakologi FKUB untuk dilakukan pengukuran kadar MDA plasenta. Sedangkan bangkai induk tikus yang sudah tidak digunakan, dikubur oleh petugas laboratorium.

4.7.10 Teknik Pengukuran Kadar MDA

Plasenta sebanyak 150 mg dipotong kecil-kecil, selanjutnya digerus dalam mortal dingin yang diletakkan diatas balok es. Kemudian ditambahkan 2 cc buffer fosfat. Selanjutnya dihomogenasikan, lalu 2 cc tersebut dibagi dalam 1 cc dalam tabung kontrol (sebagai standar) dan 1 cc pada tabung tes. Pada tabung kontrol ditambahkan 10% TCA 250 μL , 250 μL HCL. Dihomogenkan dengan vortex begitupun pada tabung tes dilakukan dengan penambahan 10% TCA 250 μL , 250 μL HCL dan 250 μL Na-Thiobarbituric acid (Na-TBA) 1.34 % dihomogenkan dengan vortex. TCA berperan dalam menghancurkan dan mengendapkan protein, karena adanya protein dapat mengganggu munculnya warna merah muda dari

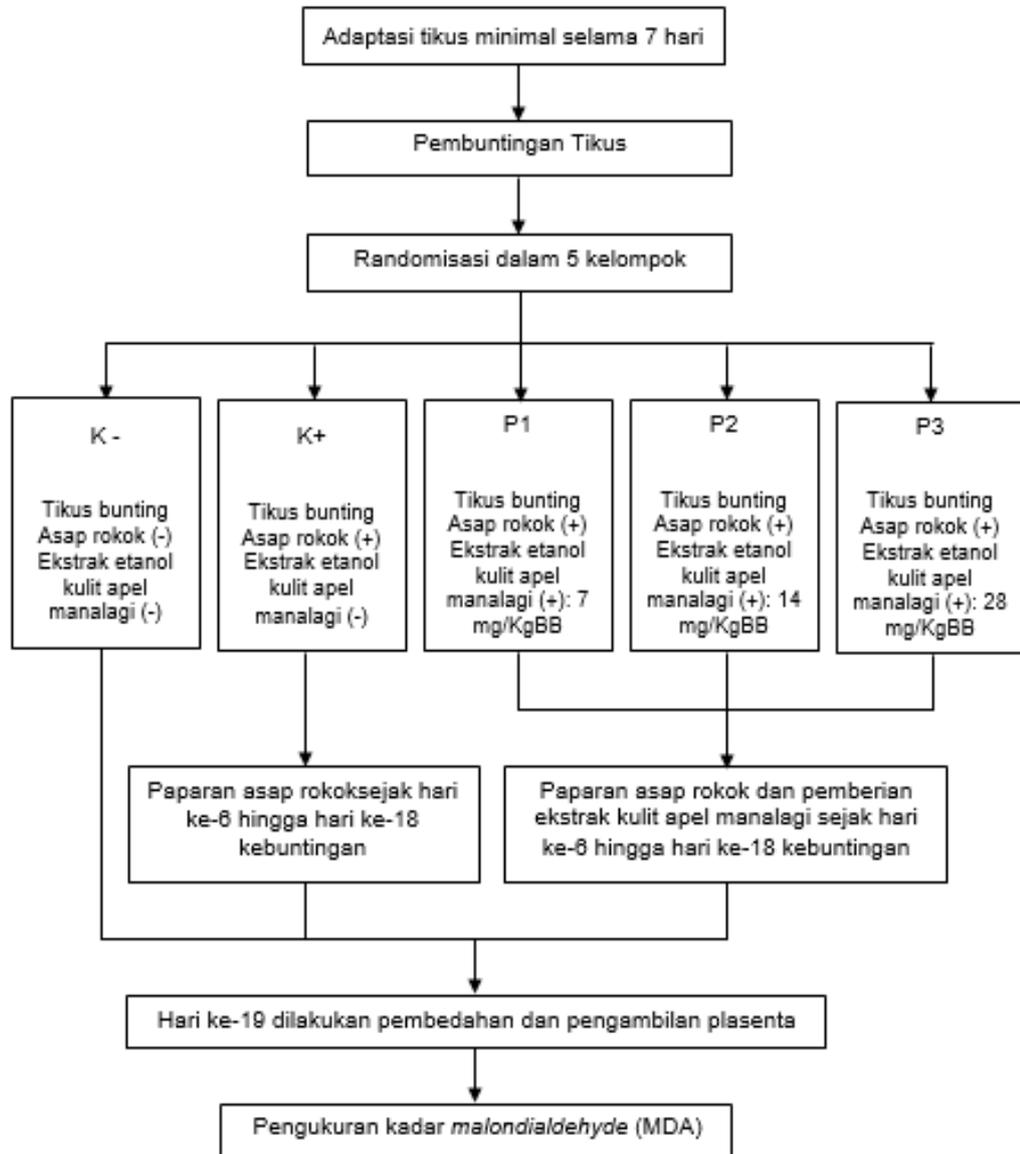




kompleks MDA-TBA. Na-Thiobarbituric acid akan bereaksi dengan MDA. Untuk HCl berperan dalam memastikan reaksi dalam suasana asam. Kemudian panaskan kedua tabung (tabung kontrol dan tabung tes) kedalam waterbath dengan temperature 105° C selama 15 menit untuk menghidrolisis peroksidasi lipid, sehingga semua MDA yang terikat akan dibebaskan dan bereaksi bersama TBA. Selanjutnya disaring dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Kemudian diangkat dan dibiarkan pada suhu kamar. Lalu supernatan diambil, dipindahkan pada tabung reaksi baru. Tambahkan 3 cc aquades pada masing-masing tabung. Prinsipnya, reaksi satu molekul MDA dengan dua molekul TBA membentuk warna merah muda. Tahap terakhir, baca absorbansinya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm (Abu bakar *et al.*, 2004). Apabila hasilnya semakin pekat warnanya, maka konsentrasi MDA yang dihasilkan juga semakin tinggi.



4.8 Alur Penelitian





4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 23.0 for Windows7 dengan tingkat signifikansi 0.5 ($p < 0.05$) dan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$). Berikut langkah uji data yaitu:

1. Uji normalitas data

Untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran normal atau tidak, dalam pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung pada normal tidaknya distribusi data, maka apabila distribusi data normal menggunakan uji parametrik yaitu mean dan standar deviasi. Sedangkan jika distribusi data tidak normal menggunakan uji non parametrik yaitu menggunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran.

2. Uji homogenitas varian

Uji ini bertujuan untuk menguji berlaku atau tidaknya Anova. Apabila data yang diperoleh merupakan varian dalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova terpenuhi.

3. Uji *one way* Anova

Analisis data yang dilakukan serentak pada semua kelompok yang bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok perlakuan yang berbeda.



4. *Post Hoc test*

Bertujuan untuk mengetahui kelompok-kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil uji Anova. Uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji *Tukey HSD* dengan tingkat signifikansi (kemaknaan) 95% ($p < 0.05$)

5. Uji Korelasi Pearson

Bertujuan untuk mengetahui hubungan secara signifikan yang telah ditentukan sebelumnya dari uji *post hoc*. Dalam penelitian ini untuk mengetahui adakah hubungan antara besarnya dosis ekstrak etanol kulit apel manalagi dengan kadar MDA plasenta. Pada uji korelasi Pearson, bila didapatkan:

1). Sig. (p) $> 0,05$: tidak ada korelasi antara dua variabel

Sig. (p) $< 0,05$: ada korelasi antara dua variabel

2). Korelasi positif (+): searah, semakin besar nilai variabel, maka semakin besar pula nilai variabel lainnya.

Korelasi negatif (-): berlawanan arah. Semakin besar nilai suatu variabel, maka semakin kecil pula nilai variabel lainnya.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Hasil pengukuran rata-rata MDA plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) pada kelompok kontrol negatif, positif, dan 3 kelompok yang diberi ekstrak etanol dengan dosis berbeda disajikan ke dalam **Tabel 5.1**.

Tabel 5. 1 Hasil Perbandingan Antar Kelompok dan Uji One Way Anova

Kelompok	(n)	Rerata MDA (ng/100mg) ± Std. Deviasi	Nilai p
Kontrol (-)	5	0.1248 ± 0.019	0.000
Kontrol (+)	5	0.3324 ± 0.09	
P1	5	0.2892 ± 0.05	
P2	5	0.2716 ± 0.03	
P3	5	0.2076 ± 0.02	

Keterangan :

- Kelompok kontrol negatif (K-)

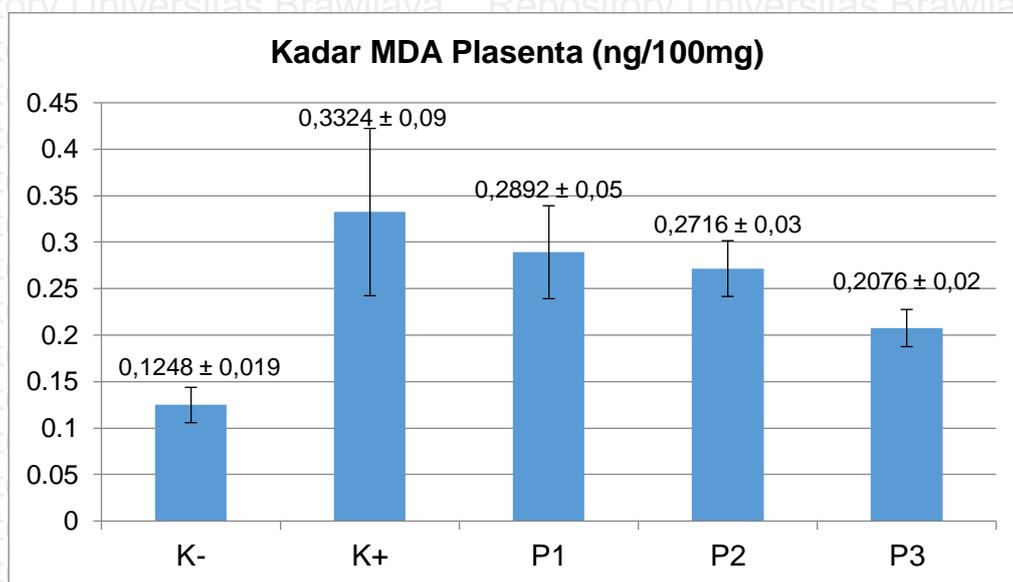
Tikus bunting yang tanpa dipapar asap rokok dan tanpa diberikan ekstrak kulit apel.
- Kelompok kontrol positif (K+)

Tikus bunting yang hanya dipapar asap rokok tanpa diberikan ekstrak kulit apel.
- Kelompok perlakuan 1 (P1)

Tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak kulit apel dengan dosis 7 mg/kgBB/hari.
- Kelompok perlakuan 2 (P2)

Tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak kulit apel dengan dosis 14 mg/kgBB/hari.
- Kelompok perlakuan 3 (P3)

Tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak kulit apel dengan dosis 28 mg/kgBB/hari.



Gambar 5. 1 Grafik Rata-Rata Kadar MDA Plasenta Tikus

Keterangan : rata-rata kadar MDA plasenta tikus setelah diberikan paparan asap rokok dan pemberian ekstrak etanol kulit apel (ng/100mg).

Dari **Tabel 5.1** diketahui bahwa rata-rata terkecil kadar MDA plasenta adalah kelompok K- sebesar 0.1248 ng/100 mg. Kelompok dengan rata-rata kadar MDA plasenta adalah kelompok K+ sebesar 0.3324 ng/100 mg. Kelompok yang dipapar asap rokok saja tanpa diberi perlakuan (K+) memiliki rata-rata kadar MDA yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok K- maupun kelompok P1, P2 dan P3. Kelompok P1 jika dibanding dengan kelompok K+ menunjukkan rata-rata kadar MDA plasenta yang lebih rendah, sama halnya dengan kelompok P2 dan P3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif memiliki rata-rata kadar MDA yang lebih rendah. Namun rata-rata kadar MDA plasenta kelompok P1, P2 dan P3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif masih menunjukkan hasil rata-rata yang lebih tinggi.



5.2 Analisis Data

Data kadar MDA dianalisis secara statistik menggunakan software SPSS 23.0 for Windows7. Analisis data pertama dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui apakah data tersebut merupakan sebaran data yang normal atau tidak. Adapun uji normalitas data didapatkan bahwa data dari semua kelompok memiliki sebaran normal (Uji Shapiro-Wilk, $p > 0.05$) dengan nilai ($p = 0.251$), Kemudian dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui varian data yang sama. sedangkan uji homogenitas varian menghasilkan data dengan varian yang sama ($p > 0.05$) dengan nilai $p = 0.342$. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data memenuhi syarat dari dapat digunakannya uji *One way* Anova pada kelompok. Uji *One way* Anova karena data yang digunakan lebih dari 2 kelompok data dan tidak berpasangan.

Berdasarkan hasil pengujian *One-way* Anova diperoleh nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$). Dengan demikian maka hasil tersebut terdapat perbedaan kadar MDA plasenta minimal antara dua kelompok yang berbeda. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan maka dilakukan uji *Post Hoc* dari hasil uji *One-way* Anova.

Tabel 5. 2 Hasil Uji Tukey HSD kadar MDA Plasenta Tikus Bunting setelah Pemaparan Asap Rokok dan Pemberian Ekstrak Kulit Apel

Kelompok	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
K(-)		0.000 *	0.000*	0.002*	0.117
K(+)			0.673	0.358	0.008*
P1				0.981	0.125
P2					0.311
P3					

Keterangan:

Tanda (*) menunjukkan tingkat signifikansi yang bermakna ($p < 0.05$).



Berdasarkan **Tabel 5.2** yang merupakan hasil dari uji Tukey HSD terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok yang tidak dipapar asap rokok K- dengan kelompok yang dipapar asap rokok K+ ($p = 0.000$). Selain itu pada kelompok K- jika dibandingkan dengan kelompok P1 memiliki perbedaan kadar MDA yang lebih rendah secara bermakna yaitu ($p = 0.000$). Demikian pula K- dengan P2 juga memiliki perbedaan kadar MDA yang lebih rendah secara bermakna ($p = 0.002$) ($p < 0.05$). Kelompok K- dan P3 memiliki kadar MDA berbeda tetapi tidak bermakna ($p = 0.117$) ($p > 0.05$). Pada kelompok P1, P2 dan P3 masih menunjukkan hasil rata-rata yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok K-.

Kelompok K+ jika dibandingkan dengan kelompok P3 menunjukkan kadar MDA plasenta yang lebih tinggi secara signifikan ($p = 0.008$) ($p < 0.05$). Sedangkan kelompok yang memiliki perbedaan kadar MDA plasenta yang tidak bermakna adalah antara kelompok K- dengan P3 dengan nilai $p = 0.117$ ($p > 0.05$). Kelompok K+ dengan kelompok P1 dan P2 yang mempunyai nilai $p = 0.673$ dan $p = 0.359$ ($p > 0.05$) memiliki perbedaan kadar MDA plasenta yang tidak bermakna. Selain itu juga kelompok P1 dan P2 ($p = 0.981$) ($p > 0.05$); kelompok P1 dan P3 ($p = 0.125$) ($p > 0.05$); dan kelompok P2 dan P3 ($p = 0.311$) ($p > 0.05$) memiliki perbedaan rata-rata kadar MDA plasenta yang tidak bermakna.

Selanjutnya dilakukan uji korelasi Pearson untuk mengetahui kekuatan hubungan antara dosis ekstrak etanol kulit apel dengan kadar MDA plasenta tikus. Dari hasil perhitungan menggunakan korelasi Pearson didapatkan $r = -0.660$. Hal ini menunjukkan hubungan yang kuat antara pemberian ekstrak etanol kulit apel dengan penurunan kadar MDA plasenta secara signifikan dengan nilai ($p = 0.002$) ($p < 0.05$). Arah korelasi bernilai negatif menunjukkan semakin tinggi dosis ekstrak



etanol kulit apel yang diberikan maka semakin rendah kadar MDA plasenta.

Sedangkan untuk mengetahui persentase kadar MDA plasenta yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol kulit apel, didapatkan hasil $R^2 = 0.436$. Secara statistik ekstrak etanol kulit apel berpengaruh terhadap kadar MDA plasenta sebesar 43,6%.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit apel dalam mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus bunting yang dipapar asap rokok. Dalam penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* galur wistar sebagai hewan coba. Perlakuan yang diberikan ialah dengan pemaparan asap rokok dan pemberian ekstrak etanol kulit apel. Asap rokok sebagai sumber oksidan eksogen yang memproduksi radikal bebas sehingga dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya kadar MDA. Pemberian ekstrak etanol kulit apel pada tikus bunting yang dipapar asap rokok digunakan untuk mengetahui efek proteksi dari antioksidan yaitu quersetin glikosida yang merupakan kandungan senyawa fenolik terbesar di dalam kulit apel. Ekstrak yang digunakan adalah etanol 70% karena memiliki kelebihan tidak berbahaya dan tidak beracun, lebih selektif, kuman sulit tumbuh, serta etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan relatif lebih sedikit. Selain itu etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Etanol 70% merupakan pelarut polar sehingga dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa flavonoid seperti quersetin (Lusiana, 2014).

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok sampel dengan pembagian kelompok kontrol dan perlakuan dengan masing-masing dosis yang berbeda. Pada kelompok K- yaitu tikus bunting yang tidak dipapar asap rokok dan tidak diberi ekstrak etanol kulit apel diperoleh hasil rata-rata kadar MDA plasenta sebesar 0.1248 ng/100 mg. Hal ini membuktikan bahwa meskipun tidak

dilakukan pemaparan asap rokok namun kehamilan sendiri merupakan keadaan fisiologis yang dapat meningkatkan kebutuhan oksigen dan metabolisme sehingga memungkinkan untuk memproduksi radikal bebas dan peroksidasi lipid (Bizon *et al.*, 2011; Chelchowska *et al.*, 2011).

Rata-rata kadar MDA plasenta pada K+ yang dilakukan paparan asap rokok tanpa pemberian ekstrak etanol kulit apel sebesar 0.3324 ng/100 mg. Kadar MDA plasenta kontrol positif ini memiliki perbedaan yang lebih tinggi secara signifikan dengan kadar MDA kelompok K- ($p = 0.000$) ($p < 0.05$). Hasil pengukuran pada kelompok K+ menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA yang paling tinggi dibanding dengan kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Hal ini berkaitan dengan perlakuan pemaparan asap rokok yang diberikan serta membuktikan bahwa pemaparan asap rokok selama 13 hari dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh tikus bunting tersebut.

Asap rokok merupakan sumber eksogen radikal bebas yang mengandung zat-zat di antaranya peroksinitrit, hidrogen peroksida, dan superoksida (Kuschner & Blanc, 2007). Asap rokok mengandung senyawa kimia yang dapat meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh dan mampu menembus barrier plasenta. Radikal bebas tersebut dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) berlebih di dalam tubuh. Pada kondisi normal ROS akan ditanggulangi oleh antioksidan di dalam tubuh seperti enzim (superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase); vitamin (vitamin A,C,E, dan β -karotan), dan senyawa lain seperti flavonoid, albumin, bilirubi, serulopasmin (Young dan Wodside, 2001; Mazzone *et al.*, 2010). Namun apabila mekanisme proteksi tubuh terhadap peningkatan ROS tidak sempurna maka kadar oksigen reaktif seperti superoksid (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), hidroksil (OH^\cdot) terbentuk lebih tinggi dan dapat



menyebabkan peningkatan stress oksidatif di dalam tubuh (Aycicek *et al.*, 2011). Superoksida (O_2^-) dapat mengalami proses dismutasi oleh enzim Superoksida Dismutase (SOD) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan O_2 (Aruoma, 1998). Hidrogen peroksida melalui reaksi Fenton didukung dengan adanya logam seperti Cu dan Fe menginisiasi pembentukan radikal hidroksil. Radikal hidroksil dari bentuk hidrogen peroksida ini merupakan jenis oksidan yang dapat menyebabkan stress oksidatif pada biomolekul esensial. Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan di dalam tubuh. Radikal hidroksil yang bereaksi dengan lipid akan membentuk radikal lipid. Selanjutnya radikal lipid bereaksi dengan oksigen terbentuk radikal lipid peroksil. Radikal lipid peroksil ini kemudian akan menyerang molekul lipid yang lain dan mengambil molekul hidrogen untuk membentuk hidroperoksida lipid dan radikal lipid yang baru (Winarsi, 2007). Proses ini merupakan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah bentuk reaksi berantai yang terjadi selama stres oksidatif yang mengarah pada pembentukan berbagai senyawa aktif yang mengakibatkan kerusakan oksidatif pada membran sel (Flemming *et al.*, 1897). Dengan adanya radikal bebas dari paparan asap rokok yang dapat menembus barrier plasenta, maka akan terjadi proses peroksidasi lipid pada plasenta yang akan membentuk produk akhir berupa *malondialdehid* (MDA) di plasenta. Semakin meningkatnya radikal bebas di dalam tubuh mengakibatkan peningkatan peroksidasi lipid dan dan semakin meningkat juga kadar MDA plasenta. Tingginya kadar *malondialdehyde* (MDA) dapat digunakan sebagai indikator peningkatan peroksidasi lipid dan kerusakan membran sel. MDA dapat digunakan sebagai penanda terjadinya peroksidasi lipid karena lebih stabil (Repetto *et al.*, 2012). Dalam keadaan fisiologis kadar MDA di dalam tubuh rendah, namun apabila



kadarnya tinggi maka dapat mengakibatkan kondisi patologis. Paparan asap rokok selama kehamilan dapat menyebabkan abortus dan kondisi patologis pada plasenta. Hal ini karena plasenta dan ketuban mengalami percepatan degenerasi (Sinclair, 2009). Selain berpengaruh terhadap gangguan pertumbuhan janin atau berat badan lahir rendah, paparan asap rokok juga berpengaruh terhadap gangguan pertumbuhan dan perkembangan setelah lahir (Rogers, 2009; Meyer et al., 2009).

Secara statistik kelompok P1 dan P2 dengan pemaparan asap rokok dan pemberian ekstrak etanol kulit apel dengan dosis 7 dan 14 mg/kgBB/hari, memiliki kadar MDA lebih rendah namun tidak signifikan dibanding kelompok yang hanya diberi paparan asap rokok saja K+ dengan nilai ($p = 0.673$) ($p > 0.05$) dan nilai ($p = 0.359$) ($p > 0.05$).

Pada kelompok P3, kelompok dengan pemaparan asap rokok dan pemberian ekstrak etanol kulit apel dengan dosis 28 mg/kgBB/hari, didapatkan kadar rata-rata MDA plasenta sebesar 0.2076 ng/100 mg. Jika dibandingkan dengan kelompok K- memiliki perbedaan kadar MDA plasenta yang tidak bermakna ($p = 0.117$) ($p > 0.05$). Namun apabila dibandingkan dengan kelompok K+ maka terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan ($p = 0.008$) ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa dosis P3 lebih efisien dibandingkan dengan dosis P1 dan P2. Namun kadar MDA pada dosis P3 masih lebih tinggi dari kadar MDA plasenta pada kelompok K-. Hal ini dapat disebabkan karena beberapa kemungkinan seperti perlunya pemberian dosis ekstrak etanol kulit apel yang lebih tinggi untuk menghasilkan kadar MDA plasenta yang lebih rendah. Selain itu dalam proses penelitian peneliti tidak dapat



mengkondisikan faktor lain yang dapat berpengaruh terhadap peningkatan kadar MDA plasenta seperti respon stres dari hewan coba (Suarsana *et al.*, 2013).

Berdasarkan data hasil rata-rata kadar MDA plasenta, didapatkan bahwa dengan pemberian dosis 28 mg/kgBB/hari dapat menghasilkan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan dari kelompok K+. Hal ini berkaitan dengan aktifitas proteksi dari antioksidan yang ada di dalam tubuh serta penambahan antioksidan dari luar tubuh. Dalam menstabilkan radikal bebas, antioksidan berperan untuk melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas, serta menghambat reaksi berantai pembentukan radikal bebas. Dalam kasus ini antioksidan eksogen yang diberikan adalah melalui pemberian ekstrak etanol kulit apel manalagi. Kandungan kulit apel terdiri dari fitokimia, polifenol dan turunannya seperti quersetin, katekin, *phloridzin*, dan asam klorogenik (Charde *et al.*, 2011). Kulit apel kaya akan kandungan antioksidan, seperti flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenolik (Simamora, 2009). Dalam penelitian Wolfe dan Liu (2003) mengemukakan bahwa kandungan fenolik kulit apel lebih banyak dibandingkan pada daging buah apel serta memiliki aktivitas antioksidan dan bioaktivitas yang lebih tinggi. Kandungan antioksidan kulit apel terbesar adalah quersetin. Dari penelitian sebelumnya menyatakan bahwa kandungan senyawa quersetin merupakan senyawa yang mampu menangkal radikal bebas dan ROS seperti anion superoksida dan radikal hidroksil (Morikawa *et al.*, 2003; Schmalhausen *et al.*, 2007). Coskun *et al.* (2004) juga menyebutkan bahwa Quersetin merupakan salah satu golongan flavonoid yang dapat melindungi tubuh dari beberapa penyakit degeneratif dengan cara mencegah proses peroksidasi lipid dan aktivitas enzim-enzim antioksidan.



Hasil korelasi Pearson didapatkan nilai $r = -0.660$ menunjukkan hubungan yang kuat antara pemberian ekstrak etanol kulit apel manalagi dengan kadar MDA secara signifikan dengan nilai ($p = 0.002$) ($p < 0.05$). Oleh karena itu, disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol kulit apel yang diberikan maka semakin rendah kadar MDA plasenta. Penurunan kadar MDA plasenta tidak hanya dipengaruhi oleh pemberian ekstrak etanol kulit apel (eksogen). Besar persentase kadar MDA plasenta yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol kulit apel, didapatkan hasil $R^2 = 43,6\%$. Sedangkan $56,4\%$ dipengaruhi oleh faktor lain seperti adanya aktivitas proteksi antioksidan di dalam tubuh seperti SOD, katalase, glutathion peroksida (GSH), dan protein glutathion. Walaupun demikian penelitian ini masih terbukti hanya pada hewan coba oleh karena itu pemanfaatan kulit apel secara klinis terhadap ibu hamil dalam mencegah peningkatan kadar MDA plasenta masih memerlukan penelitian lebih lanjut. Berdasarkan uraian diatas maka hipotesis yang menyatakan ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris Mill*) dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok **terbukti**.

Keterbatasan penelitian ini adalah adanya tikus yang mati karena faktor yang tidak bisa dikendalikan oleh peneliti.





BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Ekstrak etanol kulit apel dapat mencegah peningkatan kadar *malondialdehyd* (MDA) plasenta pada tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok. Semakin tinggi dosis ekstrak etanol kulit apel manalagi didapatkan kadar MDA plasenta tikus juga semakin rendah. Sedangkan untuk dosis efisien ekstrak etanol kulit apel manalagi yang dapat mencegah peningkatan kadar MDA yaitu dosis 3 sebesar 28 mg/kgBB/hari.

7.2 Saran

Mengingat adanya keterbatasan dan kekurangan dalam penelitian ini, maka saran yang dapat diberikan adalah :

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan pemberian dosis ekstrak etanol kulit apel yang berbeda dengan rentan dosis yang lebih besar dari dosis 3 (28mg/kgBB/hari) untuk mengetahui dosis optimal yang dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang uji toksisitas dan uji teratogenik dari ekstrak etanol kulit apel manalagi pada tikus bunting.
3. Diperlukan pengembangan lebih lanjut terkait kulit apel dalam bentuk produk olahan lainnya dan berfungsi sebagai antioksidan eksogen dalam mencegah peningkatan radikal bebas sehingga penelitian ini nantinya dapat dirasakan manfaatnya oleh masyarakat khususnya bagi ibu hamil.



DAFTAR PUSTAKA

- Abu bakar MG., Taylor A and Ferns GA. *The Effects of Aluminium and Selenium Supplementation on Brain And Liver Antioxidant Status in The Rat*, 2004, 3(1):88-93
- Aditama. 1997. *Rokok dan Kesehatan*. Jakarta: UI Press.
- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Edisi 1, Adabia Press, Jakarta, hal 4-13.
- Aruoma OI. *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease*. OICA International, 1998, 75 (2): 199-208.
- Astuti S, Susanti AI, Elista R. *Paparan Asap Rokok pada Ibu Hamil Berdasarkan Usia Kehamilan di Desa Cintamulya Kecamatan Jatinangor Kabupaten Sumedang*. 2016, 2(1): 22-27.
- Aycicek *et al.*, *Maternal Active or Passive Smoking Causes Oxidative Stress in Placental Tissue*. 2011, 170: 645-651.
- Aydogan *et al.* *Effects of Smoking During Pregnancy on DNA Damage and ROS Level Consequences In Maternal and Newborns Blood*. 2013,64(35-46).
- Bizon *et al.* 2011. *Changes in pro/antioxidant balance in smoking and non-smoking pregnant women with intrauterine growth restriction*. *Reproductive Toxicology*, 32: 360-367.
- Blenchet M, Israel A E, Cormier Y. *Inhibitory Effect of Nicotine on Experimental Hypersensitivity Pneumonitis In Vivo and In Vitro*. 2004. *American Journal Respiratory Critical Care Medicine*; 169: 903-909.
- Broussard *et al.* *Smoking and Childbearing: Neonatal Complications and Passive Smoking*, 1997, 12(1):38-45.
- Budani M.A., Erminia C., Gian MT. *Cigarette smoke is associated with altered expression of antioxidant enzymes in granulosa cells from women undergoing in vitro fertilization*. 2017,25: 296-303.
- Caliskan., Miser Salihoglu., Atalay., Yalcintas Arslan., Simsek., Yardim Akaydin. *DNA Damage and Lipid Peroxidation in Several Types of Cancer*, 2010, 35 : 125-135.
- Cempaka AR, Santoso S, Tanuwijaya LK. *Pengaruh Metode Pengolahan (Juicing dan Blending) Terhadap Kandungan Quersetin Berbagai Varietas Apel Lokal dan Impor (Malus domestica)*,2014,1(1):14-22.



- Charde, M. S., Ahmed A., & Chakole, R. D. 2011. *Apple Phytochemicals for Human Benefits*. *Int. J. Pharm. Res.* Vol. 1 (2): 1-8.
- Chelchowska et al. 2011. *The Effect of Tobacco Smoking During Pregnancy on Plasma Oxidant and Antioxidant Status in Mother and Newborn.* *European Journal of Obstetric & Gynecology and Reproductive Biology*, 155: 132-136.
- Coskun, O., Kanter, M., Armutcu, F., Cetin, K., Kaybolmaz, B., and Yazgan, O., 2004, *Protective effects of quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanol- induced acut gastric ulcer.* *Eur. J. Gen. Med.* , 1(3), 37-42.
- Dalle Donne, Rossi R, Colombo. 2006. *Biomarkers of Oxidative in Human Disease.* *Am Assoc Clinical Chemistry*, 52(4).
- Delpisheh A, Loretta B, Bernard J B, *Pregnancy, Smoking, and Birth Outcomes.* 2006. 2(3): 389-403.
- Devlin, T.M. 2002. *Biochemistry with Clinical Correlations.* Fifth Edition, Wiley-Liss, New York.
- Dewi NR, Purba A, Tarigan B. *Kombinasi Ekstrak Jeruk Brastagi dan Wortel PerOral sebelum Aktivitas Fisik terhadap Penurunan Kadar MDA Plasma Mencit Setelah Aktivitas Fisik*, 2017, 1(1):41-51.
- Djojodibroto, Darmanto. 2009. *Respirologi (Respiratory Medicine)*, EGC, Jakarta, hal 5-21
- Eliopoulos C, Klein J, Phan MK. *Hair Concentrations of Nicotine and Cotinine in Women and Their Newborn Infants.* 1996, 271(8): 621-623.
- Eni Widayati. *Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan antioxidant.* *Bagian Kimia Biokimia FK Unissula Semarang*, 2012, 50 (128): 2252-729.
- Fajar, Rahmat. 2011. *Bahaya Merokok*, Edisi 1, Sarana Bangun Pustaka, Jakarta, hal 2-53.
- Farrer, Helen. 1999. *Perawatan Maternitas*, Edisi 2, EGC, Jakarta, hal 40-50.
- Favier et al., 1995. *Analysis of Free Radicals in Biological Systems.* Birkhauser: Berlin.
- Fitri, Imelda. 2017. *Lebih Dekat Dengan Sistem Reproduksi Wanita.* Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Flemming Nielsen., Bo Borg Mikkelsen., Jesper Bo Nielsen., Helle Raun Andersen., and Philippe Grandjean. *Plasma Malondialdehyde as biomarker for oxidative stress : reference interval and effects of life-style factors*, 1997, 43 (7): 1209-1214.

Golding JB., McGlasson WB., Wyllie SG., Leach DN. *Fate of apple peel phenolics during cold storage. J Agric Food Che*, 2001; 49(5): 2283-2289.

Gusdinar T, Rina H, Kartasasmita, Ketut A. *Sintesis Kuersetin Terklorinasi dan Aktivitas Perlindungan terhadap Tukak Lambung*, 2009,20(4):163-169.

Hani U, Jiarti K, Marjati, Rita Y. 2010. *Asuhan Kebidanan pada Kehamilan Fisiologis*. Jakarta: Salemba Medika.

Hapsari, M. D. H. Y. dan Estiasih, T. *Variasi Proses dan Grade Apel (Malus sylvestris Mill.) pada Pengolahan Minuman Sari Buah Apel. Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2015, 3(3):941.

Hoffhuis W, JC, Merkus. *Adverse Health Effects of Prenatal and Postnatal Tobacco Smoke Exposure on Children*, 2003, 88:1086-1090.

Hoffmann D, Raineri R, Hecht SS, Maronpot R, Wynder EL. 1996. *A study of tobacco carcinogenesis, XIV. Effects of N-nitrosomonocotine and N-nitrosoanabasine in rats*. J of the National Cancer Inst 55: 977-979.

Hukkanen J, Jacob P, Benowitz N. 2005. *Metabolism and disposition kinetics of nicotine. Pharmacol Rev* 57: 79-115.

J Leonardi Bee., A Smith., J Britton., T Coleman. *Environmental Tobacco Smoke and Fetal Health: Systematic Review and Meta-Analysis*, 2008, 93: 351-361

Jaggy S and Yadav AS. *Increased Serum Malondialdehyd Levels Among Cigarette Smokers*. 2015,4(4);94-96.

Janet M Schloss and Luis Vitetta. *Antioxsidants to Abrogate Free Radicals : New Insights to Challenge Currently Held Beliefs*, 2014, 26(1): 4-33.

Jauniaux and Graham. 2007. *Morphological and Biological Effects of Maternal Exposure to Tobacco Smoke on The Feto-Placental Unit. Early Human Development*, 83; 699-706.

Jaya M. 2009. *Pembunuh berbahaya itu bernama rokok*. Edisi 1, Rizma, Yogyakarta, hal 15-8.

Jumiarni, Sri Mulyati dan Nurlina. 1994. *Asuhan Keperawatan Perinatal*, Edisi 1, EGC, Jakarta, hal 14-20.

Kania Nia, Candra K, Aris W, Edi W. 2012. *Metaplasia: Patomekanisme Pertahanan Sel Epsitel Bronkhiolus Paru Akibat Paparan Debu Batubara dan Asap Rokok*. Malang : UB Press.

Kashinakunti et al., *Comparative Study of Serum MDA and Vitamin C Levels in Non-Smokers, Chronic Smokers and Chronic Smokers With Acute Myocardial Infarction in Men*. 2011, 16(8): 993-998.



Kemenkes RI. 2016. *Infodatin Perilaku Merokok Masyarakat Indonesia*, Depkes RI.

Kuschner, W.G. & Blanc, P.D. 2007. *Gases & Other Airborne Toxicants*. In J Ladou (Eds), *Occupational & Environmental Medicine*, 4th Edition, (p. 515-531). New York: McGraw-Hill.

Lai et al. *Tobacco Use and Environmental Smoke Exposure Among Taiwanese Pregnant Smokers and Recent Quitters: Risk Perception, Attitude, and Avoidance Behavior*, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2013, 10: 4104-4116.

Lobo V, Patil A, Chandra N. *Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on Human Health*. 2010, 4(8): 118-126.

Lusiana et al. 2014. *Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi terhadap Kadar Sinisetin dalam Ekstrak Daun Orthosiphon stamineus Benth*. *E-Journal Husada*, 2: 1-4.

Lykkesfeldt J, Viscovich M, Poulsen H. *Plasma Malondialdehyde is induced by smoking: A Study With Balanced Antioxidant Profiles*. 2004,92: 203-206.

Mazzone et al. 2010. *Pathophysiological Impact of Cigarette Smoke Exposure on the Cerebrovascular System with a Focus on the Blood-brain Barrier: Expanding the Awareness of Smoking Toxicity in an Underappreciated Area*. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, (7): 4111-4126.

Meyer S., Raisig M., Gortner L., Ong MF., Bucheler M., Tutdibi E. 2009. *In Utero Tobacco Exposure: The Effect of Heavy and Very Heavy Smoking on Rate of SGA Infants in The Federal State of Saarland. Germany*. *Eur J Obstet Gynecolo Rep Biol*, 146: 37-40.

Morikawa, K., Nonaka, M., Narahara, M, Torii, I., Kawaguchi, K., and Yoshikawa, T., Kumazawa, Y., and Morikawa, S., *Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats*. *Life Sci*, 2003, 26(6), 709-21.

Musarofah. 2015. *Tumbuhan Antioksidan*, PT Remaja Rosdakarya, Bandung, Hal 1-21.

Naggama T et al. *Effects of Cigarette Smoking on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Cancer Patients from Western Nepal*. 2011,12:313-316.

Noya et al. *Identification of Stable Cytotoxic Factors in The Gas Phase Extract of Cigarette Smoke and Pharmacological Characterization of Their Cytotoxicity*. *Toxicology*, 2013, 314: 1-10.



Pasupathi, Saravanan G, Farook J. *Oxidative Stress Biomarker. Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 2009,1(2):55-62.

Pradono, Julianty dan Kristanti, Ch.M. 2003. *Perokok Pasif Bencana yang Terlupakan. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan*, hal. 211-222.

Reeves S and Bernstein I. *Effects of Maternal Tobacco-Smoke Exposure on fetal Growth and Neonatal Size*. 2008, 3(6): 719-730.

Repetto M, Semprine J, Boveris A. 2012. *Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination*, <https://www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation/lipid-peroxidation-chemical-mechanism-biological-implications-and-analytical-determination> Juli 2018.

Rogers JM. 2009. Tobacco and Pregnancy. *Reprod Toxicol*, 28: 152-160.

Sadler, Thomas W. 2013. *Embriologi Kedokteran Langman*, Edisi 12, EGC, Jakarta, hal 96-105.

Sadler, T.W. 2009. *Langman Embriologi Kedokteran Edisi 10*. Jakarta : EGC

Samsuria. *Efek Asap Rokok Pada Tikus (Rattus norvegicus) Bunting Terhadap Tampilan Fisiologis Induk dan Anaknya Setelah Dilahirkan*. Tesis. Tidak Diterbitkan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2009.

Sayuti K dan Rina Y. 2015. *Antioksidan, Alami dan Sintetik*. Andalas University Press.

Schloss JM and Vitetta L. *Antioxidants to Abrogate Free Radicals: New Insights to Challenge Currently Held Beliefs*. 2014, 20(1):4-6

Schmalhausen *et al.*, *Antioxidant and Prooxidant Effect of Quercetin on Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase*. 2007,45:1988-1993.

Simamora, Adelina. 2009. Flavonoid dalam Apel dan Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Kedokteran Meditek*, <http://ejournal.ukrida.ac.id/ojs/index.php/Ked/article/viewFile/192/188> (Februari 2019)

Sinclair, Constance, A Midwife's Handbook,2003, *Buku Saku Kebidanan*, Eny Meiliya dan Esti Wahyuningsih, 2009, EGC, Jakarta, hal 75-129.

Singh., Karthigesu., Pramjit Singh., Rupinder Kaur. *Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies : a Review*, 2014, 43 (3): 7-16.

Sitepoe. 2002. *Kekhususan Rokok Indonesia*, PT Grasindo, Jakarta, hal : 17-35.



- Solimun. 2001. *Metode Penelitian Kuantitatif*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Suarsana, IN, Wresdiyati T dan Suprayogi A. 2013. *Respon Stress Oksidatif dan Pemberian Isoflavon Terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus*. JITV, 18(2): 146-152.
- Subagyo P dan Achmad Z. *Pemungutan Pektin dari Kulit dan Ampas secara Ekstraksi*, 2010, 10(2): 47-51.
- Sudiana I K. 2008. *Patobiologi Molekuler Kanker, Edisi 1*, Salemba Medika, Jakarta, hal 27-35.
- Sufrida Y *et al* . 2004. *Khasiat dan Manfaat Apel*, Edisi 1, Agromedia, Jakarta, hal 22-25
- Suparmi, Khusnul K., Amal F. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Apel (Pyrus malus, L) Terhadap Penurunan Permeabilitas Vaskuler Pada Mencit Putih Jantan Strain Balb/C*, Eksakta: Jurnal Ilmu-ilmu MIPA, 2014, 14.
- Susanna D, Budi H, Hendra F. *Penentuan Kadar Nikotin Dalam Asap Rokok*. 2003,7: 2.
- Susanto, T dan Saneto. 1994. *Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian*, Bina Ilmu, Surabaya.
- Syekhfani. 2009. *Soil, Evaluasi Tanah Kebun Apel*, (online), (<http://syekhfanisd.lecture.ub.ac.id/tag/komoditi-tanaman-apel/>), diakses pada 27 Agustus 2018.
- Tanuwihardja RK, Susanto AD.2012. *Rokok Elektronik*. J Respir Indo, 32(1):53-61.
- [US] United State. 2000. *Federal trade commission tar, nicotine, and carbonmonoxide*.
<http://www.ftc.gov/reports/tobacco/1998tar&nicotinereport>. [12 Juli 2018].
- Valvanidis A., Thomais V., Konstantinos. *Tobacco Smoke: Involvement of Reactive Oxygen Spesies and Stable Free Radicals in Mechanisms of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effects with Other Respirable Particles*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2009,6: 445-462.
- Ventyaningsih ADI, Lizafni Y, Rahmi Y. *Kadar Quersetin Buah dan Jus Apel Lokal dan Impor pada Suhu Dingin*. 2016, 12(2): 117-122.
- Wickstrom, R. *Effect of Nicotine During Pregnancy: Human and Experimental Evidence*. *Pubmed Central Journal*. 2007,5 (3):213-222.
- Widayati E. *Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioixidant*. 2012; 50(128).





- Widodo E. 2006. *Pajanan Asap Rokok Kretek pada Tikus Putih sebagai Model untuk Manusia*. Disertasi. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Hal 19-21.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Edisi 1, Kanisius, Yogyakarta, hal 11-82.
- Wolfe K and Liu R H. Antioxidant Activity of Apple Peels. *J. Agric. Food Chem.* 2003,51, 609-614.
- Young IS & Woodside JV. *Antioxidants in Health and Disease*. 2001, 54: 176-186.
- Yuslianti, Euis R. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*, Deepublish, Yogyakarta, Edisi Satu hal 26-91.
- Yustika AR, Aulanni'am dan Sasangka P. *Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Pasca Induksi Cylosporine-A*. 2013, 1(2): 222-228.



LAMPIRAN

Lampiran 1. *Ethical Clearance*

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 235 / EC / KEPK – S1– KB / 10 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

- JUDUL** : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) dalam Mencegah Peningkatan Jumlah Leukosit, Kadar Serum LDL (*Low Density Lipoprotein*), Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Plasenta, Mencegah Penurunan Berat Plasenta, Hemoglobin (Hb), Aktivitas SOD (*Superoksida Dismute*) Plasenta, dan terhadap Berat Badan Bayi Baru Lahir (BBL) Tikus (*Rattus norvegicus*) Bunting akibat Paparan Asap Rokok.
- PENELITI** : 1. Ziana Zain Nurfadhilah 5. Retno Rahma Dila
2. Nadya Mufty Ramadhani 6. Nova Dewi Kusuma Hapsari
3. Fathan Hayati 7. Meiristya Abir Putri Kharima
4. Khalisa Erwanto
- UNIT / LEMBAGA** : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang,
Ketua,
04 OCT 2018

Prof. Dr. dr. Moch Istiadid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2. Data Penelitian

Hasil Pengukuran Kadar MDA Plasenta Tikus

Kelompok	Kadar MDA Plasenta (n=5) (ng/100mg)					Rata –rata
Kontrol (-)	0.1,45	0.109	0.1,45	0.109	0.116	0.1248
Kontrol (+)	0.205	0.333	0.471	0.336	0.317	0.3324
P1	0.205	0.297	0.307	0.317	0.323	0.2892
P2	0.27	0.27	0.261	0.237	0.323	0.2716
P3	0.168	0.208	0.211	0.217	0.234	0.2076

Uji Deskriptif Data

Descriptives

Kadar MDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K Neg	5	.1248	.01866	.00835	.1016	.1480	.11	.14
K Pos	5	.3324	.09446	.04224	.2151	.4497	.21	.47
P1	5	.2892	.04793	.02143	.2297	.3487	.21	.32
P2	5	.2716	.03024	.01352	.2341	.3091	.24	.32
P3	5	.2076	.02432	.01087	.1774	.2378	.17	.23
Total	25	.2451	.08733	.01747	.2091	.2812	.11	.47

Lampiran 3. Uji Normalitas, Uji Homogenitas Varian, dan Uji One Way

ANOVA

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar MDA	.109	25	.200*	.950	25	.251

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.200	4	20	.342

Uji One Way ANOVA

ANOVA

Kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.131	4	.033	12.500	.000
Within Groups	.052	20	.003		
Total	.183	24			

Lampiran 4. Uji Post Hoc

Uji Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kadar MDA

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K Neg	K Pos	-.2076*	.03234	.000	-.3044	-.1108
	P1	-.1644*	.03234	.000	-.2612	-.0676
	P2	-.1468*	.03234	.002	-.2436	-.0500
	P3	-.0828	.03234	.117	-.1796	.0140
K Pos	K Neg	.2076*	.03234	.000	.1108	.3044
	P1	.0432	.03234	.673	-.0536	.1400
	P2	.0608	.03234	.359	-.0360	.1576
	P3	.1248*	.03234	.008	.0280	.2216
P1	K Neg	.1644*	.03234	.000	.0676	.2612
	K Pos	-.0432	.03234	.673	-.1400	.0536
	P2	.0176	.03234	.981	-.0792	.1144
	P3	.0816	.03234	.125	-.0152	.1784
P2	K Neg	.1468*	.03234	.002	.0500	.2436
	K Pos	-.0608	.03234	.359	-.1576	.0360
	P1	-.0176	.03234	.981	-.1144	.0792
	P3	.0640	.03234	.311	-.0328	.1608
P3	K Neg	.0828	.03234	.117	-.0140	.1796
	K Pos	-.1248*	.03234	.008	-.2216	-.0280
	P1	-.0816	.03234	.125	-.1784	.0152
	P2	-.0640	.03234	.311	-.1608	.0328

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 5. Uji Korelasi Pearson dari Uji Regresi Linier Sederhana

Uji Korelasi Pearson

Correlations

		Dosis	Kadar MDA
Dosis	Pearson Correlation	1	-.660**
	Sig. (2-tailed)	.	.002
	N	20	20
Kadar MDA	Pearson Correlation	-.660**	1
	Sig. (2-tailed)	.002	.
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Uji Regresi Linier Sederhana

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.660 ^a	.436	.404	.05346

a. Predictors: (Constant), Dosis



Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Alat pengekstrak



Gambar 2. Oven



Gambar 3. Kandang



Gambar 4. Sekam



Gambar 5. Aklimatisasi dan pemeliharaan



Gambar 6. Timbangan tikus



Gambar 7. Alat sonde



Gambar 8. Penyondean ekstrak kulit apel



Gambar 9. Pembedahan tikus



Gambar 10. Pengambilan Plasenta



Gambar 11. Wadah Plasenta



Gambar 12. Vortex



Gambar 13. Sentrifuge



Gambar 14. Waterbath