



**PENGARUH INFUSED WATER LEMON (*Citrus limon*) TERHADAP
KADAR HEMOGLOBIN (Hb) TIKUS (*Rattus norvegicus*) BUNTING
YANG DIPAPAR UAP ROKOK ELEKTRIK**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh :
Ani Khoirinda
NIM. 165070607111009

**PROGRAM STUDI SARJANA KEBIDANAN
JURUSAN KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2020

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH *INFUSED WATER LEMON* (*Citrus limon*) TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN (Hb) TIKUS (*Rattus norvegicus*) BUNTING YANG DIPAPAR UAP ROKOK ELEKTRIK

Oleh:

Ani Khoirinda

NIM. 165070607111009

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 2 Juli 2020

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. dr. Sutrisno, Sp. OG (K)
NIP. 196802031998031005

Pembimbing -I/Penguji -II,

Prof. Dr. dr. Nurdiana, M. Kes
NIP. 195510151986032001

Pembimbing -II/Penguji -III,

Nur Aini Retno Hastuti, SST, M. Keb
NIK. 2018029003202001



Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Kebidanan,

Lilik Indahwati, SST., M.Keb.
NIK. 2016118303232001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini.

Nama : Ani Khoirinda

NIM : 165070607111009

Program Studi : Sarjana Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas
Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 3 Juli 2020

Yang membuat pernyataan,


**METERAI
TEMPEL**
TGL 20
D75C3AHF465193883
6000
ENAM RIBU RUPIAH



(Ani Khoirinda)

NIM. 165070607111009

ABSTRAK

Khoirinda, Ani. 2020. Pengaruh *Infused Water Lemon (Citrus limon)* Terhadap Kadar Hemoglobin (Hb) Tikus (*Rattus norvegicus*) Bunting Yang Dipapar Uap Rokok Elektrik. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Prof. Dr. dr. Nurdiana, M. Kes (2) Nur Aini Retno Hastuti, SST, M. Keb

Paparan uap rokok elektrik pada ibu hamil dapat menurunkan kadar Hb. Keadaan ini diduga karena uap rokok elektrik mengandung radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dan menghandurkan sel eritrosit. Untuk mengatasi radikal bebas, diperlukan antioksidan. Penelitian ini bertujuan membuktikan bahwa infused water lemon dapat mengancurkan penurunan kadar Hb yang disebabkan paparan uap rokok elektrik. Studi *eksperimental randomized post test only control grup design* dilakukan pada 30 tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang terbagi dalam lima kelompok, KN tidak diberikan *infused water* lemon dan paparan uap rokok elektrik, KP tidak diberikan *infused water* lemon dan dipapar uap rokok elektrik, kelompok perlakuan diberikan uap rokok elektrik dan *infused water* lemon P1=25g lemon/100ml air, P2= 50g lemon/100ml air dan P3=100g lemon/100ml air. Perlakuan dimulai dari hari ke-1 sampai hari ke-18 kebuntingan. Hari ke-19 dibedah dan diukur kadar hemoglobin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan uap rokok elektrik meningkatkan Hb tikus bunting. Hasil penelitian ini berbeda dengan dugaan sebelumnya bahwa uap rokok elektrik dapat menurunkan kadar Hb tikus bunting. Dengan pemberian *infused water* lemon, kadar Hb yang semula meningkat menjadi menurun. Uji *One Way Anova* terhadap data Hb menunjukkan $p=0,045$ ($p<0,05$) dan pada uji *post hoc* LSD ($p<0,05$) terdapat perbedaan yang bermakna antara KN dan KP ($p=0,010$), KP dan P1 ($p=0,040$), serta KP dan P3 ($p=0,006$).

Kata kunci: rokok elektrik, infused water lemon, hemoglobin, tikus bunting.

ABSTRACT

Khoirinda, Ani. 2020. Effects of *Lemon Infused Water (Citrus limon)* On Hemoglobin (Hb) Of Pregnant Rats (*Rattus norvegicus*) Exposed by Electric Cigarette. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program , Faculty of Medicine at Brawijaya University. Supervisor: (1) Prof. Dr. dr. Nurdiana, M. Kes (2) Nur Aini Retno Hastuti, SST, M. Keb

Exposure to electric cigarette vapor in pregnant women can reduce Hb levels. This situation is thought to be due to electric cigarette vapor containing free radicals that enter the body and interfere with erythrocyte cells. To overcome free radicals, antioxidants are required. This research aims to prove that the *lemon infused water* can prevent a decrease in the level of Hb due to exposure to electric cigarette vapor. Experimental study randomized post-test only control group design conducted on 30 pregnant rats (*Rattus norvegicus*) which divided into five groups, negative groups are not given *lemon infused water* and electric cigarette vapor exposure , the positive group is not given *lemon infused water* but is exposed to electric cigarette vapor, the treatment group is exposed to electric cigarette vapor and given *lemon infused water*, first treatment (25 lemon/100 ml water), second treatment (50 lemon/100 ml water) and third treatment (100 gr lemon/100 ml) water. The treatment starts from the 1st day to 18th day of pregnancy. They are dissected on the 19th, and the Hb level is measured. The results showed that exposure to electric cigarette vapors have increased the Hb level of pregnant rats. The results of this study differ from the previous estimate that the electric cigarette vapor can lower the levels of Hb pregnant rats. When given *lemon infused water*, the Hb level that was increased is then decreased. *One Way Anova* test on the Hb data shows $p = 0,045$ ($p < 0,05$) and on the LSD Post Hoc test ($p < 0,05$) there is a significant difference between negative groups and positive group ($P = 0,010$), positive group and first treatment ($P = 0,040$), as well as positive group and third treatment ($P = 0,006$).

Keywords: electric cigarette, lemon infused water, hemoglobin, pregnant rats

**DAFTAR ISI**

Halaman

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kehamilan	6
2.1.1 Hemoglobin dalam Kehamilan	7
2.2 Uap Rokok Elektrik	8
2.2.1 Bahaya Uap Rokok Elektrik pada Kehamilan	11
2.3 Radikal Bebas	12
2.3.1 Radikal Bebas Uap Rokok Elektrik	14
2.4 Antioksidan	15
2.5 Lemon	18



2.5.1 Kandungan Lemon	18
2.5.2 Lemon Sebagai Antioksidan	20
2.6 Hewan Coba Tikus Putih	21
2.6.1 Sistem Reproduksi Tikus Betina	24
2.6.2 Fisiologi Hemoglobin Tikus Bunting Normal	27

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep	29
3.2 Hipotesis Penelitian	31

BAB 4 RANCANGAN PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	32
4.1.1 Metode	32
4.1.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba	32
4.2 Populasi dan Subjek Penelitian	33
4.2.1 Populasi Penelitian	33
4.2.2 Subjek Penelitian	33
4.2.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	34
4.2.3.1 Kriteria Inklusi	34
4.2.3.2 Kriteria Eksklusi	35
4.3 Variabel Penelitian	35
4.3.1 Variabel terkait	35
4.3.2 Variabel Bebas	35
4.4 Lokasi dan Penelitian	35
4.4.1 Lokasi Penelitian	35
4.4.2 Waktu Penelitian	35
4.5 Instrumen Penelitian	36
4.5.1 Alat Penelitian	36
4.5.2 Bahan Penelitian	37
4.6 Definisi Operasional	39
4.7 Prosedur Penelitian	40
4.7.1 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba	40
4.7.2 Penentuan Dosis	40



4.7.2.1 Penentuan Dosis Rokok Elektrik	40
4.7.2.2 Penentuan Dosis <i>Infused Water</i> Lemon	40
4.7.3 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba	42
4.7.4 Prosedur Pemberian <i>Infused Water</i> Lemon	42
4.7.5 Prosedur Pemaparan Uap Rokok Elektrik	42
4.7.6 Prosedur Terminasi	44
4.7.7 Prosedur Pembedahan	44
4.7.8 Pengambilan Kadar Hemoglobin	44
4.7.9 Prosedur Pengukuran Kadar hemoglobin	45
4.8 Teknik Analisa Data	46
4.9 Diagram Alur Penelitian	48
BAB 5. HASIL PENELITIAN	
5.1 Hasil Penelitian	49
5.2 Analisa Data	50
BAB 6 PEMBAHASAN	53
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	64
7.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	65



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Perhitungan usia kehamilan dengan menggunakan perhitungan TFU	6
Tabel 2.2 Kriteria Anemia pada Kehamilan	8
Tabel 2.3 Klasifikasi Jeruk Lemon (<i>Citrus limon</i> (L.)	18
Tabel 2.4 Nila Gizi Jeruk Lemon (<i>Citrus limon</i> (L.)	19
Tabel 2.5 Taksonomi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	22
Tabel 2.6 Biologi Tikus Putih	23
Tabel 2.7 Kadar Hemoglobin Kebuntingan Tikus	28
Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Hewan Coba	32
Tabel 5.1 Rata-Rata Hemoglobin Induk Tikus Bunting yang Dipapar Uap Rokok Elektrik dan <i>Infused Water</i> Lemon	49
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk	50
Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas	51
Tabel 5.4 Uji One-Way ANOVA	50
Tabel 5.5 Hasil Uji LSD Terhadap Data Hemoglobin (Hb) Tikus Setelah Dilakukan Uji One Way ANOVA	50



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.)) 18

Gambar 2.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) 21

Gambar 2.3 Empat Tahap Siklus Estrus pada Tikus 25

Gambar 2.4 Fase Proestrus, Estrus, Mesterestus, dan Diestrus 27

Gambar 4.1 Rangkaian alat rokok elektrik 43

Gambar 5.1 Rata-rata Hemoglobin Tikus Bunting 49



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Keterangan Kelayakan Etik	69
Lampiran 2. Surat Keterangan Identitas Taksonomi Lemon	70
Lampiran 3. Surat Keterangan Sehat Tikus	71
Lampiran 4. Data Penelitian	72
Lampiran 5. Dokumen Kegiatan	74
Lampiran 6. Curriculum Vitae (CV) Peneliti	77



DAFTAR SINGKATAN

ANOVA : *Analysis of Variance*ASH : *Action on Smoking and Health*BBLR : *Berat Badan Lahir Rendah*CAT : *Catalase*CDC : *Centers for Disease Control and Prevention*CO : *Karbon monoksida*CO₂ : *Karbondioksida*COHb : *Carboxyhemoglobin*DEG : *Diethylene Glycol*DEPKES : *Departemen Kesehatan*DNA : *Deoxyribo Nucleic Acid*E₁ : *Estron*E₂ : *Estradiol*E₃ : *Estriol*EPO : *Eritropoetin*Fe²⁺ : *Ferro*Fe³⁺ : *Feri*FSH : *Follicle Stimulating Hormon*GPx : *Glutathione Peroxidase*GSH : *Glutathione*GYTS : *Global Youth Tobacco Survey*H : *Hidrogen*H₂O₂ : *Hidrogen peroksida*Hb : *Hemoglobin*HbFe³⁺ : *Methemoglobin*HbO₂ : *Oxyhemoglobin*HOCl : *Asam hipoklorit*



IAKMI : Ikatan Ahli Kesehatan Indonesia

Kamankes : Kementrian Kesehatan

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

LH : *Luteinizing Hormone*

MDA : Malondialdehid

NO_2^- : Oksida nitrit

NRT : *Nicotine Replacement Therapy*

O_2 : Oksigen

O_2^- : Superoksida

OH^- : Hidroksil

ONOO^- : Peroksinitrit

P1 : Perlakuan 1

P2 : Perlakuan 2

P2PTM : Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular

P3 : Perlakuan 3

PG : *Propylene Glycol*

PHGPx : *Fosfolipid-hidroperoksida*

PS : *Phosphatidylserine*

Riskesdas : Riset Kesehatan Dasar

ROO^- : Peroksisil

ROS : *Reactive Oxygen Species*

SOD : Superoksida Dismutase

SPSS : *Statistical Package for the Social Science*

TFU : Tinggi Fundus Uteri

VG : *Vegetable Glycerin*

WHO : World Health Organization

WHO-FCTC : *World Helath Organization-Framework Convention on Tobacco Control*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jumlah perokok saat ini mencapai 1,3 milyar orang di seluruh dunia.

Pada tahun 2015 terjadi peningkatan konsumsi rokok di negara berkembang (*Tobacco Control Support Centre, 2015*). *Global Youth Tobacco Survey (GYTS)*

menyatakan bahwa prevalensi merokok di Indonesia dengan usia >15 tahun sebesar 34,2% pada tahun 2007 menjadi 34,7% pada tahun 2010, dan meningkat 36,3% pada tahun 2014 (*GYTS, 2014*). Berdasarkan laporan *GATS* tahun 2011, sebanyak 51,3% (14,6 juta) orang dewasa terpapar asap rokok tembakau di tempat kerja, 78,4% orang dewasa (133,3 juta) terpapar asap rokok tembakau di rumah. Sebanyak, 85,4% orang terpapar asap rokok tembakau di restoran, dan 70% orang terpapar asap rokok di transportasi publik (*Global Adult Tobacco Survey, 2012*). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, sebesar 96,9 juta jiwa terpapar asap rokok, yang terdiri dari 66,7% pada perempuan dan 30,2% pada laki-laki (*IAKMI, 2014*).

Menurut penelitian *Action on Smoking and Health (ASH)* Britain sebanyak 1740 orang pernah menggunakan rokok elektrik (*ASH, 2014*). Di Amerika Serikat terdapat kenaikan penggunaan rokok elektrik pada pelajar dalam kurun waktu satu tahun dari 27,3% pada tahun 2014 dan meningkat 37,7% pada tahun 2015 (*US. Department of Health and Human Services, 2016*). Berdasarkan data diperoleh total remaja Indonesia yang di survei ditemukan 2,1% remaja



perokok elektrik aktif, hal ini terjadi pada 1,1% remaja perempuan dan 3% remaja laki-laki (GYTS, 2014).

Berdasarkan perkembangan zaman di Indonesia, saat ini yang tengah menjadi fenomena baru dikalangan masyarakat salah satunya adalah rokok elektrik. Hal ini dikarenakan berbagai faktor, sehingga orang beralih ke rokok elektrik. Salah satu faktornya adalah perokok memiliki kesadaran untuk berhenti merokok, sehingga perokok dapat melakukan dengan cara menurunkan kadar nikotin pada rokok elektrik secara bertahap. ASH Britain menyatakan sebanyak 38% responden menggunakan rokok elektrik karena ingin berhenti merokok dan 25% responden ingin mengurangi jumlah rokok yang dikonsumsi (ASH, 2014).

Akan tetapi rokok elektrik sama bahayanya dengan dengan rokok konvensional, karena mengandung zat-zat kimia yang berbahaya bagi penghisapnya maupun yang menghirupnya.

Kandungan pada rokok elektrik diantaranya adalah propilen glikol, Nikotin, DEG (*Diethylene Glicol*) dan gliserin. Propilen glikol atau gliserin merupakan zat sebagai pelarut. Bahaya bagi perokok pasif dan dapat menyebabkan gangguan saluran pernapasan seperti asma (P2PTM Kemenkes, 2018). Jika semua zat-zat tersebut dipanaskan akan menghasilkan uap rokok elektrik yang berbahaya bagi ibu hamil. Karena paparan uap rokok elektrik mengandung karbonmonoksida (CO) dan nikotin (Rizqiyah, 2014).

Nikotin dan karbon monoksida dalam uap rokok elektrik dapat mengakibatkan radikal bebas di dalam tubuh ibu hamil. Radikal bebas dalam tubuh dapat berdampak buruk bagi hemoglobin ibu hamil, karena radikal bebas dapat mengakibatkan peroksidasi membran lipid pada sel darah merah yang



menyebabkan rusaknya struktur eritrosit dan memperpendek usia eritrosit, lalu terjadi lisis, dan hemoglobin ibu hamil turun yang mengakibatkan anemia (Yoshihito, 2012). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar menyatakan bahwa terdapat peningkatan kejadian anemia pada ibu hamil, yaitu sebesar 37,1% pada tahun 2013 dan mengalami peningkatan pada tahun 2018 sebesar 48,9% (Risksedas, 2018). Anemia pada kehamilan dapat berakibat buruk pada maternal yaitu, infeksi maternal dan prematuritas, sedangkan pada fetal dapat mengakibatkan, bayi hipoksia sampai dengan meninggal, BBLR, bayi lahir mati (Manuaba, 1998).

Salah satu cara untuk mencegah kerusakan pada tubuh akibat terpaparnya radikal bebas yaitu dengan pemberian antioksidan. Antioksidan sendiri dapat melindungi sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Pemberian antioksidan eksogen sangat membantu antioksidan endogen dalam menghilangkan radikal bebas. Pemberian *infused water* lemon merupakan solusi sebagai antioksidan eksogen (Widowati, 2011).

Infused water merupakan salah satu minuman yang memiliki rasa dan sangat mudah untuk dibuat (Chandra, 2017). Minuman *Infused water* banyak dikonsumsi oleh masyarakat umum karena cara pembuatannya yang sangat mudah (Surati, 2017). Pada *Infused water* tidak ada bahan tambahan seperti gula dan sirup sehingga dapat dikonsumsi secara alami (Harifah, 2017). Salah satu *infused water* yang terkenal dikalangan masyarakat adalah *infused water lemon*. Pengolahan lemon sebagai *infused water* menjadi salah satu alternatif untuk mengatasi keasaman, yang terdapat dari buah lemon, karena pengkonsumsian buah lemon yang terlalu asam akan menyebabkan erosi pada gigi dan sensitif pada lambung (Trisnawati, 2018).



Lemon atau *Citrus limon* merupakan salah satu buah yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena mudah ditemukan di berbagai tempat pohonnya mudah untuk ditanam, dan memiliki banyak kandungan yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Salah satu manfaat lemon yaitu memiliki kandungan antioksidan. Jeruk lemon memiliki kandungan vitamin C dan flavonoid sebagai antioksidan. Kandungan vitamin C pada jeruk lemon lebih tinggi dibandingkan dengan jeruk nipis. Vitamin C pada jeruk lemon dapat ditemukan pada daging jeruk lemon, sedangkan flavonoid dapat ditemukan pada kulit jeruk lemon (Krisnawan, 2018). Penelitian ini menggunakan jenis tikus putih (*Rattus norvegicus*) karena pada umumnya tikus tersebut mempunyai sistem kerja dan jenis organ yang hampir mendekati dari manusia.

Karena terbatasnya penelitian mengenai *infused water* lemon pada ibu hamil, sehingga peneliti ingin mengetahui apakah ada pengaruh pemberian *infused water* lemon terhadap kadar hemoglobin tikus bunting yang dipaparkan oleh uap rokok elektrik.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pengaruh pemberian *infused water* lemon dapat mempengaruhi kadar hemoglobin tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar uap rokok elektrik?



1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian *infused water* lemon dapat menaikkan kadar hemoglobin tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar uap rokok elektrik.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kadar hemoglobin (Hb) tikus bunting yang dipapar uap rokok elektrik tanpa diberi *infused water* lemon.
2. Mengetahui kadar hemoglobin (Hb) tikus bunting yang dipapar uap rokok elektrik dan diberi *infused water* lemon.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Memberikan tambahan ilmu pengetahuan dan sebagai dasar penelitian manfaat *infused water* lemon dalam dunia kesehatan khususnya sebagai antioksidan pada hemoglobin ibu hamil dan untuk mengurangi stress oksidatif.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan memberikan alternatif solusi di masyarakat tentang pengaruh *infused water* lemon sebagai antioksidan terutama pada wanita yang sedang hamil yang terpapar uap rokok elektrik. Sebagai pencegahan terjadinya penurunan kadar hemoglobin pada ibu hamil.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kehamilan

Kehamilan adalah pertumbuhan dan perkembangan janin intrauterin mulai sejak konsepsi dan berakhir sampai terjadinya persalinan (Manuaba, 1998).

Kehamilan terjadi melalui tahap fertilisasi terjadi pada saat sel spermatozoa dilepaskan dan dapat membuahi ovum yang berda di ampula tuba fallopii.

Spermatozoa diejakulasikan kedalam saluran genetalia wanita. Lalu spermatozoa berenang melalui serviks hingga mencapai tuba fallopi untuk bertemu dengan sel telur membuahi sel telur (Saminem 2008). Kehamilan terbagi menjadi tiga trimester, trimester pertama (0-12 minggu), trimester kedua (13-27 minggu), dan trimester ketiga (28-40 minggu).

Usia kehamilan dapat dihitung sejak terjadinya amenore atau melalui perhitungan tinggi fundus uteri (TFU) (Saminem 2008):

Tabel 2.1 Perhitungan usia kehamilan dengan menggunakan perhitungan TFU

Minggu	Keterangan
12 Minggu	Setinggi 3 jari simfisis
16 Minggu	Setinggi 1/2 simfisis-pusat
20 Minggu	Setinggi 3 jari dibawah pusat
24 Minggu	Setinggi pusat
28 Minggu	Setinggi 3 jari atas pusat
32/40 Minggu	Setinggi 1/2 pusat proseus xifoideus
36 Minggu	Setinggi 3 jari dibawah proseus xifoideus



2.1.1 Hemoglobin dalam Kehamilan

Hemoglobin (Hb) adalah suatu protein utama dalam eritrosit yang mengangkut oksigen (O_2) ke jaringan yang membutuhkan dan pengangkutan karbondioksida (CO_2) dari jaringan ke paru-paru (Olver *et al.* 2010). Dimana Hemoglobin yang berikatan dengan karbondioksida akan membentuk carboxyhemoglobin (COHb) dan menyebabkan darah berwarna merah tua.

Pada kehamilan, didapatkan penurunan ringan kadar hemoglobin, dimana hal ini dapat dijumpai pada wanita sehat yang tidak mengalami defisiensi zat besi ataupun defisiensi asam folat. Penurunan Hemoglobin ini dapat menyebabkan anemia. Menurut *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) kadar hemoglobin kondisi fisiologi anemia pada ibu hamil, pada trimester I dan III adalah $< 11\text{gr}\%$, sedangkan pada trimester II kadar hemoglobin adalah $< 10,5\text{ gr}\%$ (Leveno, 2009). Terdapat perubahan hemoglobin pada wanita hamil, yaitu:

Penurunan Hemoglobin

Penurunan Hemoglobin pada kehamilan dapat disebabkan karena pada saat kehamilan kebutuhan oksigen lebih tinggi dimana hal ini memicu peningkatan produksi eritropoetin. Eritropoetin (EPO) ini gunanya untuk membentuk eritrosit. Hal itu mengakibatkan volume plasma bertambah dan sel darah merah (eritrosit) meningkat. Tetapi peningkatan volume plasma terjadi secara berlebihan sedangkan pada eritrosit tidak begitu banyak mengalami peningkatan, sehingga terjadinya penurunan konsentrasi hemoglobin, yang mengakibatkan terjadinya hemodilusi atau pengenceran darah (Prawirohardjo, 2008). Hemodilusi ini menyebabkan anemia fisiologi atau pseudonemia.



Peningkatan volume darah berbanding sebagai berikut : Plasma 30%, Sel darah 18%, dan hemoglobin 19%

Pengenceran darah pada saat kehamilan, atau yang bisa disebut dengan hemodilusi mempunyai manfaat, yaitu, hemodilusi dapat meringankan beban jantung yang harus bekerja berat selama kehamilan. Dimana hidremia atau hipervolemia menyebabkan cardiac output meningkat dan kerja jantung dan kerja jantung menjadi ringan bila viskositas atau kekentalan darah menjadi rendah, resistensi perifer berkurang yang menyebabkan tekanan darah tidak naik.

Untuk mengetahui Hemoglobin pada ibu hamil maka dilakukan pemeriksaan, hal tersebut untuk mencegah terjadinya anemia pada ibu hamil. Dimana pemeriksaan dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pada trimester I (sebelum umur kehamilan 12 minggu) dan trimester III (umur kehamilan 28 sampai 36 minggu).

Tabel 2.2 Kriteria anemia pada kehamilan (Manuaba, 2001)

Hemoglobin (Hb)	Kriteria
≥ 11 gr%	Normal
9 - 10 gr%	Anemia Ringan
7 - 8 gr%	Anemia sedang
< 7 gr%	Anemia Berat

2.2. Uap Rokok Elektrik

Rokok elektrik adalah sebuah inovasi baru sebagai alat merokok. Pada awalnya rokok elektrik dikatakan aman bagi kesehatan karena larutan nikotin yang terdapat pada rokok elektrik hanya terdiri dari campuran air, propilen glikol,



zat penambah rasa, tanpa mengandung tar. Pada WHO membentuk WHO Framework Convention on Tobacco Control (WHO-FCTC) memiliki solusi untuk masalah endemi tembakau. WHO terus mendorong seluruh masyarakat untuk berhenti merokok untuk mengurangi bahaya tembakau dengan melakukan beberpa metode, salah satunya adalah *Nikotine Replacement Therapy* (NRT) yaitu terapi pengganti nikotin. Dimana NRT sendiri dilakukan dengan cara menurunkan kadar nikotin secara bertahap (WHO, 2009).

Beberapa kandungan uap rokok elektrik yang bersifat toksik:

1. Karbon Monoksida

Karbon monoksida (CO) merupakan *silent killer* karena memiliki sifat yang tidak berwarna, tidak berasa, dan tidak berbau, tetapi dalam konsentrasi yang tinggi CO dapat mengakibatkan kematian jika diapar dengan cepat (Cooper dan Alley., 2011). semua jenis pembakaran yang tidak sempurna yang mengandung bahan bakar karbon akan menghasilkan CO, salah satunya adalah rokok.

Saat manusia bernafas, berbagai gas akan dihirup seperti oksigen, karbon monoksida, nitrogen, dan gas lainnya yang ikut terhirup dan akan masuk kedalam paru-paru lalu mengalir ke alveoli dan masuk ke aliran darah. Gas CO yang masuk dalam tubuh masuk ke aliran darah dan meningkatkan kadar gas CO dalam tubuh. Setelah CO larut dalam darah, maka CO akan berikatan dengan hemoglobin (Hb) sehingga membentuk karsihemoglobin (COHb). Ikatan yang terjadi antara CO dan Hb terjadi dalam kecepatan antara ikatan CO dan O₂, tetapi pada ikatan untuk CO 245 kali lebih kuat daripada O₂. Maka dari itu terjadi persaingan antara CO dan O₂ untuk berikatan dengan Hb (WHO, 2010).



Secara fisiologi Hemoglobin darah memiliki fungsi sebagai sistem transpor untuk membawa oksigen dalam membentuk oxyhemoglobin (HbO_2) (Dewanti, 2018). Dengan adanya COHb dalam tubuh maka kemampuan darah untuk untuk transpor O_2 ke jaringan tubuh berkurang. Dan mengakibatkan suplai oksigen dalam jaringan berkurang lalu terjadilah hipoksia. CO sangat berbahaya jika dihirup oleh ibu hamil, karena memiliki dampak pada ibu maupun bayinya (Elista, 2016).

CO yang biasa kita temukan salah satunya berasal dari uap rokok elektrik. Dimana uap rokok elektrik yang biasa dihiru ibu hamil (perokok pasif), sangat bersiko pada ibu dan janin, dimana janin akan mengalami kelahiran prematur, bayi lahir dengan berat lahir rendah karena kandungan karbon monoksida (CO) dalam rokok dapat mengganggu kerja hemoglobin dalam mengikat oksigen yang seharusnya di edarkan ke seluruh tubuh, sehingga janin dalam kandungan mengalami kekurangan O_2 dan nutrisi, dan dapat juga menyebabkan hipoksia (Elista, 2016).

2. Nikotin

Nikotin adalah alkaloid utama berasal dari dalam daun kering tembakau (*nicotiana tobacum*), yang merupakan sumber utama nikotin. Nikotin yang terdapat pada uap rokok elektrik dengan cepat akan mencapai otak dalam waktu 8 detik setelah inhalasi. Nikotin dalam jangka waktu lama akan terakumulasi didalam pembuluh darah dan dapat mengakibatkan terjadinya penyempitan dinding pembuluh darah. Nikotin dalam rokok tidak hanya masuk kedalam perokok aktif, tetapi perokok pasif yang menghirup uap rokok elektrik pun dapat masuk kedalam tubuh perokok pasif (Fidrianny, 2004)



Nikotin merupakan suatu basa lemah yang mudah menguap serta tidak berwarna. Nikotin dapat diserap melalui rongga mulut, jalan napas, dan kulit. Nikotin masuk secara per-oral akan diabsorpsi sedikit di lambung karena sifat dasarnya yang sangat kuat, namun absorpsi di usus cukup untuk menyebabkan keracunan. Nikotin yang masuk dengan cara inhalasi dimetabolisme di paru dan dapat mencapai otak hanya dalam waktu 6 detik (Tanuwihardja, 2012).

Paparan nikotin yang berasal dari uap rokok elektrik memberikan efek negatif pada ibu hamil yang menghirupnya. Dapat menimbulkan dampak negatif pada janin. Nikotin merupakan zat vasokonstriktor yang mengakibatkan detak jantung janin berdenyut lebih lambat, hal ini akan mengakibatkan gangguan sistem saraf janin (Elista, 2016).

Adapun terapi untuk mengurangi sampai dengan menghilangkan rasa ketagihan terhadap nikotin dengan menggunakan terapi pengganti nikotin (*nicotine replacement therapy*) diantaranya adalah *nicotin skin patch*, *nicotin gum*, *nicotin inhaler*, *nicotin nasal spray*, dan rokok elektrik. Cara kerja pada rokok elektrik adalah dengan cara mengurangi kadar nikotin secara bertahap (Tanuwihardja, 2012).

2.2.1. Bahaya Uap Rokok Elektrik pada Kehamilan

Uap rokok elektrik pada kehamilan sangat berbahaya karena dapat memberikan dampak negatif untuk janin maupun ibu hamil itu sendiri. Paparan uap rokok elektrik terdapat kandungan nikotin dan karbon monoksida (CO), kandungan tersebut dapat mempengaruhi perkembangan janin dan dapat menghambat distribusi nutrisi dari ibu ke janin. Hal ini berdampak pada janin diantaranya adalah perkembangan jani, kondisi dan berat badan bayi lahir rendah



pada waktu persalinan (Lestari, 2015). Dan pada wanita hamil merokok juga dapat memberikan dampak negatif pada janin, efek buruknya adalah ibu berpotensi melahirkan bayi yang meninggal dibandingkan dengan wanita hamil yang tidak merokok. Selain itu status gizi ibu perokok bisa menjadi lebih buruk dibandingkan dengan yang tidak merokok yaitu dapat mengurangi nafsu makan ibu hamil (Elista, 2016).

Lalu untuk nikotin merupakan zat vasokonstriktor yang berakibatkan pada metabolisme protein dalam tubuh janinin yang sedang berkembang, dan detak jantung janin lebih lambat yang menimbulkan gangguan terhadap sistem saraf janin (Elista, 2016). Karbon monoksida dalam uap rokok elektrik dapat mengikat hemoglobin membentuk karboksi hemoglobin, sehingga dapat menyebabkan hipoksia pada janin, dan dapat dikaitkan dengan sindrom kematian bayi mendadak (Maidartati, 2015).

2.3. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan senyawa atau molekul yang relatif tidak stabil dan mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya suatu elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Karena itulah disebut dengan radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS).

Radikal bebas yang memiliki reaktivitas sangat tinggi, disebabkan oleh sifatnya yang menyerang atau menarik elektron di sekitarnya. Reaksi tersebut merupakan upaya radikal bebas untuk mencari pasangannya elektron. Radikal bebas dapat terbentuk melalui dua cara, yaitu secara eksogen yang berasal dari



polusi, absorpsi melalui kulit dan makanan dan secara endogen yang berasal dari

dalam tubuh sebagai respon normal proses biokimia intrasel maupun ekstrasel.

ROS (*reactive oxygen species*) merupakan tipe radikal turunan oksigen

reaktif. Oksigen reaktif ini mencangkup superoksida (O_2^-), hidroksil (OH \cdot),

peroksisil (ROO \cdot), hidrogen peroksida (H $_2$ O $_2$), oksida nitrit (NO $_2$), oksigen (O $_2$),

peroksinitrit (ONOO \cdot), dan asam hipoklorit (HOCl), tetapi tipe turunan oksesigen

utama adalah superoksida (O_2^-), hidroksil (OH \cdot) dan hidrogen peroksida (H $_2$ O $_2$).

Radikal bebas yang merampas elektron lain akan menimbulkan reaksi berantai

sehingga radikal bebas akan semakin banyak. Radikal akan merusak molekul

makro pembentuk sel yaitu protein, lemak *deoxyribo nucleic acid* (DNA) dan

karbohidrat (polisakarida) (Khaira, 2016).

Komponen terpenting dalam membran sel mengandung asam lemak

tak jenuh yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Jika membran

sel terserang maka fungsi membran akan berubah, hal ini dapat mematikan

sel-sel pada jaringan tubuh. Radikal bebas akan menyerang pada sel kulit

sehingga akan merusak senyawa lemak pada membran sel yang nantinya dapat

menyebabkan kulit kehilangan ketegangannya dan muncullah keriput. Radikal

bebas juga dapat merusak protein dimana terjadi oksidasi protein yang dapat

mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu berada. Salah satu

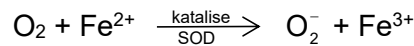
contohnya adalah kerusakan protein pada lensa mata yang dapat mengakibatkan

katarak (Khaira, 2016).

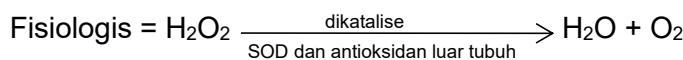
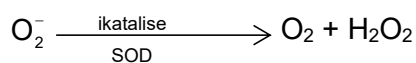


2.3.1. Radikal Bebas Pada Uap rokok elektrik

Tahap awal terjadinya radikal bebas dimulai dari oksigen yang mengikat salah satu Fe yang berada di hemoglobin yaitu ferro (Fe^{2+}) yang menghasilkan reaksi $\text{O}_2^- + \text{Fe}^{3+}$ superoksida (O_2^-) dan methemoglobin (HbFe^{3+}).



Methemoglobin dalam keadaan fisiologi dapat berubah menjadi Fe^{2+} , tetapi pada keadaan patologis dapat bereaksi dengan radikal bebas lainnya yang didapat dari luar tubuh. O_2^- merupakan radikal bebas yang didapat dari dalam tubuh maupun luar tubuh, agar superoksida tidak menjadi radikal bebas maka dikatalise oleh superoksida dismutase (SOD), yaitu enzim yang berada didalam tubuh menjadi oksigen dan hidrogen peroksida, lalu jika dalam keadaan fisiologis superoksida dapat dikatalise oleh SOD dan dibantu oleh antioksidan luar tubuh menjadi air dan oksigen. Tetapi pada keadaan patologis superoksida berikatan dengan Fe^{2+} yang akan menghasilkan $\text{Fe}^{3+} + \text{OH}^-$ (hidroksil).



Sehingga methemoglobin (HbFe^{3+}) tidak dapat mengikat oksigen dan OH^- dapat merusak peroksidasi lipid membran sel darah merah (Yoshihito, 2012). Setelah terjadinya peroksidasi lipid, terdapat reaksi lanjutan dari peroksidasi lipid yaitu



reaksi autoksidasi. Tahap pertama yaitu inisiasi, dimana reaksi ini diawali dengan pengambilan atom hidrogen dari gugus metilena (-CH₂-) dan menghasilkan radikal bebas pada asam lemak tidak jenuh, hal ini disebabkan karena adanya ikatan rangkap pada asam lemak yang dapat melemahkan ikatan antara C dan H yang berdekatan dengan ikatan rangkap, sehingga H mudah lepas, serta reaksi ini berikatan dengan OH⁻, yang dapat membentuk ROO⁻ (peroxy). Lalu tahap selanjutnya terjadi reaksi propagasi, dimana pada reaksi ini radikal peroksil menarik hidrogen (H) sehingga menghasilkan ROOH (lipid hidroperoksida). Setelah itu lipid hidroperoksia dikatalisa oleh Fe dapat membentuk produk berbahaya menjadi malondialdehid (MDA), akrolein, dan 4-hidroksinonenal (Falahudin, 2010). Sel-sel berbahaya tersebut dapat merusak struktur membran sel darah merah dengan mengubah permeabilitas air dan menurunkan deformabilitas sel, sehingga terjadi abnormalitas pada fosfolipid membran, hal ini dapat menyebabkan *Phosphatidylserine* (PS) dapat dikenali oleh makrofag, dan akan dihancurkan oleh makrofag (Yoshihito, 2012). Sehingga sel darah merah lisis dan menyebabkan anemia. *Phosphatidylserine* adalah fosfolipid dan membran sel yang memberikan sinyal kepada makrofag dengan sinyal *eat me* (makan aku) (Segawa, 2015).

2.4. Antioksidan

Tubuh manusia sangat membutuhkan antioksidan untuk melindungi organ tubuh dari tekanan oksidatif atau tekanan radikal bebas yang secara berlebihan. Definisi antioksidan adalah suatu zat apapun yang dapat mencegah, menunda oksidasi pada DNA, protein, karbohidrat, dan lemak yang dapat dioksidasi pada konsentrasi rendah (Sachdeva *et al.*, 2014).



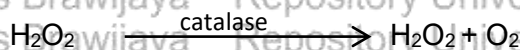
Tekanan oksidasi yang dapat menyebabkan stress oksidatif disebabkan oleh ROS. Sistem pertahanan antioksidan adalah sistem pelindungi sel dari tekanan oksidasi dan stress oksidatif yang disebabkan oleh ROS yang berasal dari eksogen maupun dari endogen dan berfungsi untuk menurunkan radikal bebas (Sachdeva *et al.*, 2014).

Sistem antioksidan menusia dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok, hal itu berdasarkan dengan sifat antioksidan :

1. Antioksidan Enzimatik

Antioksidan enzimatik adalah pertahanan antioksidan endogen atau dapat disebut sebagai antioksidan primer atau antioksidan enzimatis. Yang termasuk pertahanan antioksidan enzimatis meliputi superoksida dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), dan catalase (CAT).

Superoksida dismutases (SODs) terdapat tiga isoform. Seng dan tembaga yang mengandung SOD (ZnCuSOD) adalah protein primer yang yang berada di area kecil di sitoplasma, berfungsi untuk menghilangkan O_2^{\bullet} yang dihasilkan oleh retikulum endoplasma. Mangan mengandung SOD (MnSOD) yaitu protein tetrameric yang terlokasi dalam matris mitokondria, berfungsi untuk memulung O_2^{\bullet} yang ditimbulkan dari rantai transpor elektron. SOD ekstraseluler ditemukan pada ruang ekstraselular sebagai sebagai protein tetrameric yang berfungsi sebagai katalis penurunan pada superoksida menjadi H_2O_2 . catalase (CAT) terletak di peroksisom dan mitokondria. CAT adalah protein tetrameric yang merubah H_2O_2 menjadi O_2 dan H_2O .





Glutathione peroxidase (GPx) merupakan kelompok enzim yang bergantung pada selenium. Selenium sendiri adalah mineral yang berasal dari tanah, selenium tidak diproduksi didalam tubuh, tetapi tubuh memerlukan selenium dengan kadar yang sedikit. GPx memiliki 4 isoform yaitu GPx1 sitosolik, GPx plasma, fosfolipid-hidroperoksida (PHGPx) dan GPx-GI gastrointestinal.

Semua GPx membutuhkan glutathione (GSH) sebagai kofaktor.

2. Antioksidan Non-Enzimatik

Antioksidan non-enzimatik dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Protein logam transisi adalah antioksidan endogen ekstraseluler yang ditemukan dalam plasma manusia yaitu ceruplasmin, albumin, hepatoglobin, dan transfer. Mereka mengikat dengan logam transisi dan mengontrol produksi radikal bebas yang dikatalisasi logam. Seuloplasmin dan albumin dan masing-masing adalah ion tembaga dan zat besi. pada hepatoglobin berkaitan dengan hemoglobin sedangkan pada ferritin dan menstranfer mengikat dengan bebas bilirubin, glutathione, lipoid, ubiquinon, dan asam urat adalah antioksidan endogen non-protein yang dapat menghambat proses oksidasi dengan menurunkan ROS (Sachdeva *et al.*, 2014).

Antioksidan eksogen pada umumnya ditemukan pada makanan. Yang paling dikenal adalah vitamin seperti karotenoid, asam askorbat (vitamin C), vitamin E, dan polifenol. Molekul-molekul tersebut dapat menghambat reaksi oksidatif dengan mengurangi sampai menghilangkan radikal bebas atau ROS (Sachdeva *et al.*, 2014).

2.5. Lemon

2.5.1. Kandungan Lemon



Gambar 2.1 Jeruk lemon (*Citrus limon* (L.)) (Mohanapriya, 2013)

Jeruk lemon yang memiliki nama latin *Citrus Limon* (L.).Klasifikasi Jeruk lemon Klasifikasi tanaman jeruk lemon menurut (Dev, 2016), adalah sebagai berikut

Tabel 2.3 Klasifikasi jeruk lemon (*Citrus limon* (L.)) (Mohanapriya, 2013)

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Superdivisio	Spermatophyta
Divisi	Magnoliopsida
Kelas	Magnoliopsida
Subkelas	Rosidae
Order	Sapindales
Family	Rutaceae
Genus	<i>Citrus limon</i>

Lemon adalah buah berbentuk oval dengan kulit berpori halus berwarna kuning, beberapa buah memiliki ujung runcing yang membulat dipangkal, memiliki biji berjumlah lima hingga sepuluh. Pohon berukuran kecil atau pendek berduri yang tingginya mencapai 10 hingga 20 kaki. Daun lemon yang berwarna hijau gelap. Lemon memiliki daun yang berwarna putih dengan 5 kelopak dan berbau harum.





Buah Lemon memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah sebagai antioksidan. Lemon sendiri mengalami kandungan seperti asam sitrat, minyak astri, vitamin C, bioflavonoid, polifenol, kumarin, flavonoid, dan minyak-minyak volatil pada kulit buah lemon seperti glikosida, α -pinen, α -terpinen, β -pinen, serta kumarin, dan polifenol pada lemon.

Tabel 2.4 nilai gizi jeruk lemon (*Citrus limon* (L.))(Mohanapriya, 2013)

Nutrisi	Jumlah
Energi	121 kJ (29kcal)
Gula	2.50 g
Lemak	0.30 g
Thiamine (Vit. B1)	0.040 mg (3%)
Riboflavin (Vit.B2)	0.020 mg (1%)
Niacin (Vit.B3)	0.100 mg (1%)
Asam Pantothenik (B5)	0.190 mg (4%)
Vitamin B6	0.080 mg (6%)
Vitamin C	53.0 mg (88%)
Potassium	138 mg (3%)
Magnesium	8 mg (2%)
Folate (Vit. B9)	11 μ g (3%)
Zinc	0.06 mg (1%)
Besi	0.60 mg (5%)
Kalsium	26 mg (3%)
Fosfor	16 mg (2%)
Protein	1.10 g
Dietary fibre	2.8 g
Karbohidrat	9.32 g

Salah satu kandungan yang memiliki manfaat adalah adalah vitamin C. Vitamin C sendiri pada lemon sangat bermanfaat sebagai antioksidan dimana hal tersebut sebagai penangkal dari radikal bebas. Penyajian lemon untuk



dikonsumsi sebagai antioksidan memiliki beberapa variasi, yaitu dengan cara di peras, dan dijadikan *infused water*. Dan lemon sendiri memiliki asam sitrat dengan nilai pH rendah yaitu 2,74 (Manner *et al.*, 2006). Dapat kita ketahui bahwa makanan atau minuman asam yang memiliki pH <5,5 dapat menyebabkan erosi. Selain itu pH rendah juga sensitif bagi pencernaan manusia khususnya adalah lambung. *infused water* sendiri adalah salah satu pengolahan lemon sebagai minuman untuk mengatasi keasaman pada buah lemon.

2.5.2. Lemon Sebagai Antioksidan

Pengkonsumsian lemon dengan cara diperas dan *infused water* sangat berbeda. Jika pada perasan, maka lemon hanya diperas lalu didapatkan sari buahnya dan setelah itu dikonsumsi. Sedangkan pada pengkonsusian lemon dengan *infused water* yaitu dengan cara mencampurkan antara beberapa potongan lemon dengan air putih lalu dидiamkan beberapa jam sampai sari buah keluar. Pengkonsumsian lemon dengan cara *infused water* memiliki keuntungan tersendiri, karena seseorang yang tidak menyukai rasa asam pada buah lemon maka dapat melakukan cara ini, pencampuran air putih dengan beberapa lemon memiliki rasa asam yang sangat sedikit dibandingkan dengan perasan lemon, lalu ada seseorang yang ingin memiliki variasi rasa saat meminum air putih maka dapat di campurkan dengan buah-buahan yang disukainya, salah satunya adalah lemon (Trisnawati, 2018)

Untuk prinsip pembuatan *infused water* yaitu dengan merendamkan beberapa potongan buah didalam air. Lalu sari dan bahan yang terkandung dalam buah akan terlarut kedalam air sehingga bisa dirasakan manfaatnya saat meminumnya. Buah yang dimasukkan kedalam air akan terlarut secara endoterm



dimana memerlukan kalor untuk terjadinya reaksi (perpindahan sari dari buah ke air). Semakin tinggi suhu air yang digunakan maka semakin cepat terjadinya perpindahan sari buah. Bahan atau kandungan berasal dari buah akan larut ke dalam air hingga rata (Trishawati, 2018).

Infused water lemon mempunyai kandungan vitamin C yang sangat bermanfaat bagi tubuh, salah satunya yaitu sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Vitamin C sendiri merupakan jenis vitamin yang dapat larut air. Selain vitamin C yang mempunyai fungsi sebagai antioksidan, ada kandungan lain yang dapat berperan sebagai antioksidan pada buah lemon yaitu flavonoid dan total fenolik. Kandungan pada total fenol pada buah lemon adalah 110,25 mg GAE/100ml (Trishawati, 2018).

Pembuatan *infused water* lemon umumnya lemon direndam kedalam air putih semalam beberapa jam. Sehingga nantinya akan terlihat kekeruhan pada air putih. Kekeruhan itu sendiri diakibatkan oleh sari buah yang mulai keluar dan terampur dengan air putih. Selain itu, perendaman buah dapat membuat sifat kimia air putih semakin bertambah sesuai dengan kandungan gizi buah yang direndam bersamaan dengan air putih (Trishawati, 2018).

2.6. Hewan Coba Tikus Putih



Gambar 2.2 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Nugroho, 2018)

Hewan coba adalah hewan yang sengaja dipelihara yang akan digunakan sebagai hewan model dimana terdapat keterkaitan untuk pengembangan dan pembelajaran berbagai macam bidang ilmu dalam skala pengamatan atau penelitian pada laboratorium. Tikus memiliki beberapa galur yang biasa diunakan pada penelitian adalah galur *Wistar*, *Long-Evans* dan *Sprague-Dawley*. Tikus putih (*Rattus novergicus*) adalah salah satu tikus yang sering digunakan sebagai hewan model dalam penelitian laboratorium.

Dengan ciri-ciri morfologi *Rattus novergicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan kurang lebih 20-23 mm (Depkes, 2011). Taksonomi tikus putih (*Rattus novergicus*):

Tabel 2.5 Taksonomi tikus putih (*Rattus novergicus*) (Depkes, 2011)

Kingdom	Animalia
Phylum	Chordata
Sub Phylum	Vertebrata
Classis	Mammalia
Ordo	Rodentia
Family	Muridae
Genus	<i>Rattus</i>
Spesies	<i>Rattus novergicus</i>

Adapun keunggulan yang dimiliki oleh tikus putih, diantaranya adalah : pemeliharaan dan penanganan yang mudah karena tubuhnya kecil, memiliki daya adaptasi yang baik, sehat dan bersih, memiliki kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntingan yang singkat, serta memiliki karakteristik produksi dan



reproduksi yang mirip dengan mamalia lainnya (Malole & Pramono, 1989). Data biologi pada tikus putih (*Rattus novvergicus*):

Tabel 2.6 Biologi tikus putih (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998; Malole & Pramono, 1999)

Kriteria	Keterangan ¹⁾	Keterangan ²⁾
Berat lahir	5-6 gram	5-6 gram
Berat badan dewasa		
Jantan	300-400 gram	450-520 gram
Betina	250-300 gram	250-300 gram
Kecepatan Tumbuh	5 gram/hari	-
Lama hidup	2-3 tahun, dapat 4 tahun	2,5-3,5 tahun
Lama produksi ekonomis	1tahun	-
Perkawinan kelompok	3 betina : 1 jantan	-
Siklus birahi	4-5 hari	4-5 hari
Lama bunting	20-22 hari	21-23 hari
Jumlah anak	Rata-rata 9, dapat 20	6-12 ekor
Kawin sesudah beranak	1-24 jam	-
Umur disapih	21 hari	21 hari
Umur dewasa	40-60	-
Umur dikawinkan		
Jantan	10 minggu	-
Betina	10 minggu	-
Konsumsi makan	-	10 gram/100 gram BB/hari
Konsumsi air minum	-	10-12 ml/100 gram BB/hari
Aktivitas	Nokturnal (malam)	
Volume darah	57-70 ml/KgBB	54-70 ml/KgBB
Phospholipid	-	36-130 mg/dl
Trigliserida	-	26-145 mg/dl
Cholesterol	-	40-130 mg/dl

Keterangan:

1) Berdasarkan Smith dan Mangkoewidjojo

2) Berdasarkan Malole dan Pramono

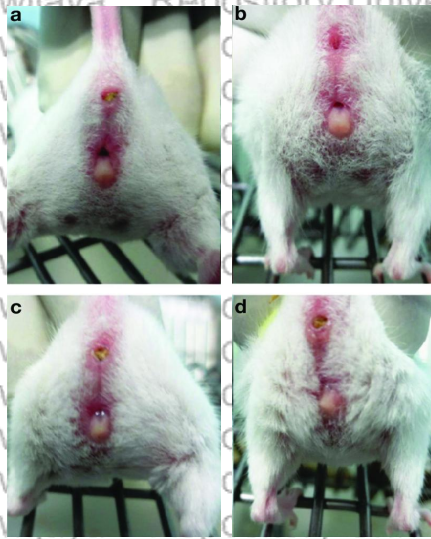


Bentuk dan fungsi organ, serta proses biokimia dan biofisik pada tikus memiliki banyak kemiripan dengan manusia. Perbedaan antara tikus dan manusia yaitu terdapat pada struktur dan fungsi plasenta tikus, dimana tingkat tingkat pertumbuhan tikus yang lebih cepat dari manusia, dapat dilihat bahwa kehamilan tikus hanya sekita 20-22 hari sedangkan manusia dapat mencapai 40 minggu.

Tikuspun mengalami masa laktas sama halnya dengan manusia, tetapi pada tikus masa laktasi sangat singkat selama 21 hari, sedangkan pada manusia selama 2 tahun. Tikus dapat membuat vitamin C sendiri sedangkan manusia dapat memperoleh vitamin C dari luar yaitu dari minuman maupun makanan.

2.6.1. Sistem Reproduksi Tikus Betina

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) lama kebuntingannya sekitar 20-23 hari. Diketahui bahwa dalam aktivitas reproduksinya, tikus putih mempunyai siklus berahi lebih dari dua kali dalam setahun, dimana tikus tersebut dapat bunting lebih dari dua kali dalam setahun, hal tersebut dapat disebut dengan polietrus (Malole & Pramono, 1989). Untuk menentukan tahapan pada tikus yang sedang dalam siklus berahi dapat dilakukan dengan menggunakan teknik *papsmear* (ulas vagina), dengan melihat epitel vagina tikus yang menggunakan mikroskop sehingga dapat dibedakan menjadi fase proestrus, fase estus, fase mestestrus dan fase diestrus (Partodihardjo, 1992)



Gambar 2.3 Empat Tahap Siklus Estrus pada Tikus. Empat tahap siklus estrus yang ditunjukkan oleh *Rattus norvegicus*. Fase Proestrus (A), Fase Estrus (B), Metestrus (C), Diestrus (D) (Ekambaram et al, 2017)

1. Fase proestrus

Fase Proestrus merupakan fase menjelang estrus dimana sudah terdapat gejala berahi yang muncul. Dimana pada fase ini folikel de Graaf mulai tumbuh dibawah pengaruh FSH dan menghasilkan estrogen dalam jumlah yang banyak. Terdapat tiga jenis estrogen utama yang didapat secara alamiah dalam tubuh tikus betina adalah estron (E_1), estradiol (E_2), dan estriol (E_3). Fase ini, estradiol dapat menyebabkan tikus betina mulai mau didekati oleh tikus jantan.

Dan dapat diketahui dengan adanya sel-sel epitel berinti yang mucul secara bertumpuk atau tunggal dan sel-sel tanduk yang mendominasi, dimana sel-sel tersebut dapat diketahui dengan melakukan *pap smear* pada vagina tikus, dan biasanya nampak pada preparat ulas vagina (*pap smear*) hal ini berlangsung selama 12 jam (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).



2. Fase estrus

Pada fase estrus merupakan periode berahi, dimana dapat dikatakan bahwa tikus betina siap untuk dikawinkan, sehingga terdapat ciri khas yaitu menghampiri pejantan, terjadinya kopulasi, dan tidak lari bila pejantan menungganginya. Fase ini berlangsung selama 9-20 jam. Pada penelitian lain mengatakan fase estrus berlangsung 9-15 jam. Fase ini dibawah pengaruh *follicle stimulating hormon* (FSH), dimana folikel ovary mengalami pertumbuhan dengan cepat, dengan demikian pada fase ini estrogen mengalami peningkatan sensisivitas. Adapun salah satu fungsi estrogen dapat dilihat pada uterus yang mengalami pembesaran dan mengembung dikarenakan adanya akumulasi cairan lumen. Tingginya kadar estrogen dapat menekan sekresi FSH dan sebaliknya LH mengalami peningkatan yang sangat tinggi. sekresi estrogen oleh ovarium memicu pelepasan *luteinizing hormone* (LH) untuk ovulasi pada masa estrus (Ekambaram et al, 2017). Sebagai petunjuk pada fase estrus dapat dilihat pada apusan vagina, yaitu terdapat sel-sel menanduk.

3. Fase metestrus

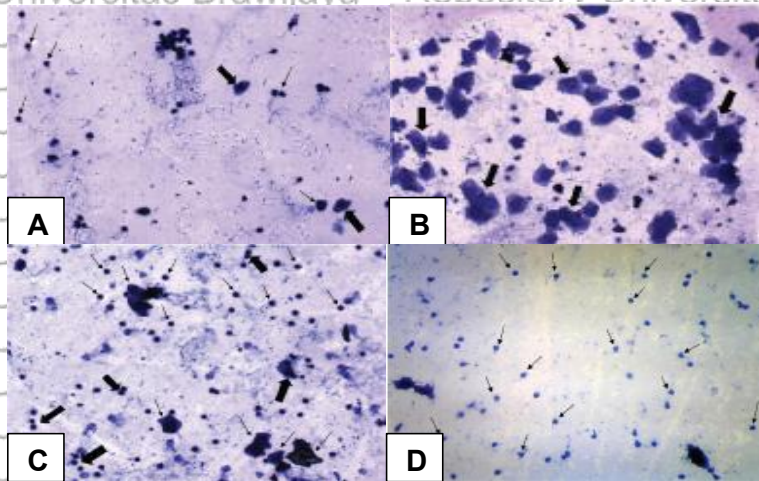
Fase metestrus adalah fase lanjutan dari fase estrus, pada fase ini berlangsung selama 21 jam (Baker et al., 1980). Peneliti lain mengatakan bahwa fase metestrus terbagi menjadi 2 stadium yaitu stadium 1 (metestrus awal) berlangsung sekitar 15 jam dan stadium 2 (metestrus akhir) berlangsung selama 6 jam. Pada fase metestrus umumnya tidak terjadi perkawinan. Fase ini ditandai dengan bertumbuhnya sel-sel granulosa folikel dengan cepat, hal itu dipengaruhi oleh LH dari adnohipofisa. Fase metestrus dapat diketahui dengan dilakukannya *pap smear* yang akan ditemukan sel-sel tanduk dan sel-sel leukosit.



4. Fase diestrus

Fase diestrus merupakan fase terpanjang yang terjadi oleh tikus putih.

Pada fase ini memiliki waktu 60-70 jam. Jika dilakukan *pap smear* maka akan didapatkan leukosit dalam jumlah banyak.



Gambar 2.4 (A). Fase Proestrus. Sel epitel berinti besar (Pada anak panah besar). Beberapa sel binukleat dan sel cornified juga terlihat (panah kecil). Perbesaran objek asli 10 X. **(B).** Fase Estrus. Sebagian besar terdapat sel cornified (panah besar). Perbesaran objek asli 10 X. **(C).** Fase Metestrus. Sebagian besar terdapat leukosit dan beberapa sel epitel cornified non granular dan non nukleasi (panah kecil). Leukosit terlihat dalam rumpun. Perbesaran objek asli 10 X. **(D).** Fase Metestrus. Sebagian besar terdapat leukosit dan beberapa sel epitel cornified non granular dan non nukleasi (panah kecil). Leukosit terlihat dalam rumpun. Perbesaran objek asli 10 X.

2.6.2. Fisiologi Hemoglobin Tikus Bunting Normal

Menurut penelitian ditemukan bahwa terdapat perubahan dalam parameter darah kadar tikus bunting yang memiliki kesamaan nilai seperti ibu hamil. Salah satu dari parameter darah adalah kadar hemoglobin (Hb). Penurunan Hemoglobin (Hb) pada tikus bunting sama halnya pada ibu hamil, hal tersebut terjadi karena adanya hemodelusi yaitu kadar Hb menurun secara fisiologi. Hemodelusi terjadi pada fase pertengahan organogenesis (Urasoko et al., 2009). Fase kehamilan pada tikus bunting adalah hari ke-0 (awal kehamilan),



hari ke-7 (periode embrionik), hari ke-14 (periode janin), dan hari ke-20 (akhir kehamilan) (Urasoko et al., 2009).

Tabel 2.7 Kadar hemoglobin kebuntingan tikus putih (Kim, 2000)

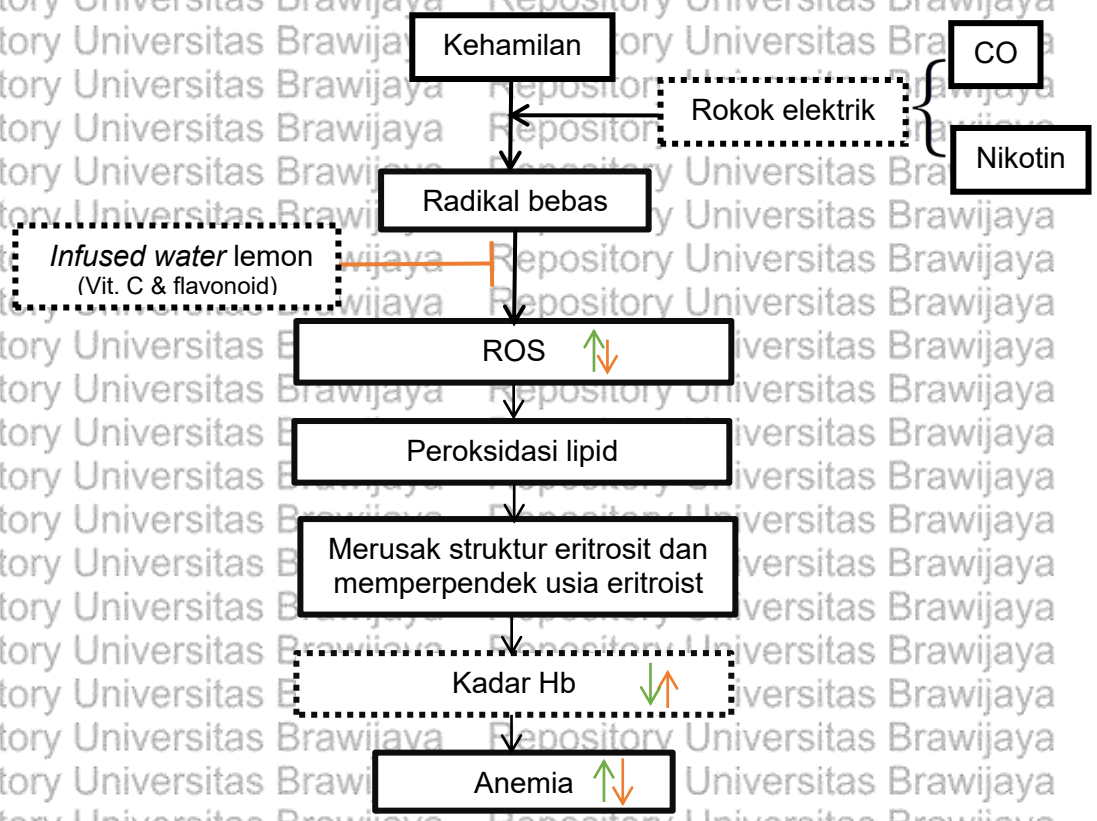
	Hemoglobin (g/dL)
Tidak Bunting	16.0
Kebuntingan hari ke-6	14.40
Kebuntingan hari ke-13	13.80
Kebuntingan hari ke-17	12.20
Kebuntingan hari ke-20	11.50



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan

- = Variabel yang tidak di teliti
- ↑ = Hasil mekanisme radikal bebas
- ↓ = Hasil Penghambatan oleh *infused water* lemon
- = Menyebabkan
- - - = variabel yang di teliti
- | = menghambat

Narasi Kerangka Konsep

Kehamilan adalah pertumbuhan dan perkembangan janin intrauterin mulai sejak konsepsi dan berakhir sampai terjadinya persalinan. Pada saat kehamilan, di dalam tubuh ibu mengalami radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh. Radikal bebas yang terdapat dalam tubuh ibu hamil akan meningkat jika terpapar radikal bebas dari luar tubuh, salah satunya adalah paparan uap rokok elektrik.

Uap rokok elektrik yang mengandung zat nikotin dan Karbon monoksida (CO), jika dihirup oleh ibu hamil maka akan berdampak buruk pada ibu dan janin yang dikandungnya. Uap rokok elektrik dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas dalam tubuh ibu hamil. Radikal bebas yang paling banyak meningkat adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS).

ROS (*reactive oxygen species*) merupakan tipe radikal turunan oksigen reaktif. Turunan oksigen utama adalah superoksida (O_2^-), hidroksil (OH^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) (Khaira, 2016). Radikal bebas yang didapat dari luar tubuh dapat mengikat ferro (Fe^{2+}) dan menghasilkan O_2^- dan feri (Fe^{3+}) sehingga mengakibatkan *methemoglobin* ($HbFe^{3+}$). Superoksida (O_2^-) merupakan turunan ROS, agar radikal bebas dalam tubuh berkurang maka O_2^- dikatalise oleh SOD menjadi oksigen (O_2) dan H_2O_2 . Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan turunan ROS. Jika H_2O_2 berikatan dengan Fe^{2+} akan menghasilkan Fe^{3+} dan OH^- . Sehingga OH^- dapat merusak peroksidasi lipid membran sel darah merah (Yoshihito, 2012).



Setelah terjadinya peroksidasi lipid, terdapat reaksi lanjutan dari peroksidasi lipid yang menghasilkan ROOH (lipid hidroperoksida). Setelah itu lipid hidroperoksida dikatalisa oleh Fe dan menghasilkan produk berbahaya menjadi malondialdehid (MDA), akrolein, dan 4-hidroksinonenal (Falahudin, 2010). Produk-produk berbahaya tersebut dapat merusak struktur membran sel darah merah dengan mengubah permeabilitas air dan menurunkan deformabilitas sel, sehingga terjadi abnormalitas pada fosfolipid membran, hal ini dapat menyebabkan *phosfatidilserin* (PS) dapat dikenali oleh makrofag, dan akan dihancurkan oleh makrofag (Khaira, 2016). Sehingga sel darah merah lisis dan menyebabkan anemia (Yoshihito, 2012). Agar tidak menyebabkan anemia karena adanya proses terjadinya radikal bebas, maka radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan.

Untuk menaikkan kadar hemoglobin pada ibu hamil, dengan memberikan *infused water* dapat sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Lemon memiliki kandungan yang dapat dipercaya menjadi antioksidan, salah satunya adalah vitamin C. Sehingga antioksidan yang digunakan adalah *infused water* lemon. Sehingga saat pemberian *infused water* lemon sebagai antioksidan dapat menurunkan radikal bebas dan kadar hemoglobin dapat meningkat hingga batas normal (Sachdeva *et al.*, 2014).

3.1 Hipotesisi Penelitian

Pemberian *infused water* lemon dapat menaikkan kadar Hemoglobin darah tikus putih (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar uap rokok elektrik.



BAB 4

METODE PENELITIAN

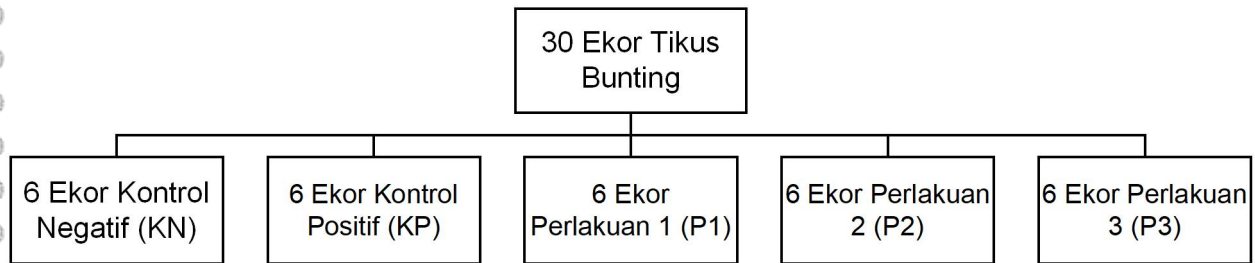
4.1 Rancangan Penelitian

4.1.1. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Control Grup Design*.

4.1.2. Pembagian Kelompok Hewan Coba

Hewan coba dibagi dalam 5 kelompok dengan pembagian 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok berisi 6 ekor tikus, dengan rincian.



Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Hewan Coba

- Keterangan:
- Kontrol Negatif (KN) = Kelompok tikus bunting tanpa pemaparan uap rokok elektrik dan tanpa pemberian *infused water*.
 - Kontrol Positif (KP) = Kelompok tikus bunting dengan pemaparan uap rokok elektrik dan tanpa pemberian *infused water*.
 - Perlakuan 1 (P1) = Kelompok tikus bunting dengan pemaparan uap rokok elektrik dan diberi *infused water* lemon 3 ml (0,75 g lemon)
 - Perlakuan 2 (P2) = Kelompok tikus bunting dengan pemaparan uap rokok elektrik dan diberi *infused water* lemon 3 ml (1,5 g lemon)
 - Perlakuan 3 (P3) = Kelompok tikus bunting dengan pemaparan uap rokok elektrik dan diberi *infused water* lemon 3 ml (3 g lemon)



4.2 Populasi dan Subjek Penelitian

4.2.1. Populasi Penelitian

Tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus galur wistar yang berusia 8 minggu dengan berat badan 150 - 200 gram.

4.2.2. Subjek Penelitian

Besar sampel subjek penelitian dapat dihitung menggunakan rumus (Federer, 1991):

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

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n = 4,75 \text{ (dibulatkan)}$$

$$n = 5$$

Maka jumlah sampel yang diperlukan untuk setiap kelompok adalah 5 ekor tikus. Selain itu untuk mengantisipasi apabila ada tikus yang mati saat adaptasi dengan perlakuan, maka dilakukan koreksi sebagai berikut



$$N = \frac{n}{(1-f)}$$

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi

n = Besar sampel awal

f = Perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (Sastroasmoro & Ismael, 2010)

Sehingga,

$$N = \frac{n}{1-f}$$

$$N = \frac{5}{1-10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,55$$

$$N = 6 \text{ (Pembulatan)}$$

Sehingga, dalam penelitian ini membutuhkan 30 ekor tikus betina dengan pembagian 6 ekor tikus betina pada di setiap perlakuan.

4.2.3. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.2.3.1. Kriteria Inklusi

- a) Tikus sehat yaitu tikus dengan bulu tebal berwarna putih, bergerak aktif, mengonsumsi pakan dan minum.
- b) Jenis kelamin betina.
- c) Usia tikus minimal 8 minggu.
- d) Memiliki berat badan 120 – 200 gram.
- e) Tikus bunting



4.2.3.2 Kriteria Eksklusi

- a) Tikus dengan kondisi sakit selama penelitian, seperti gerakan tidak aktif, tidak mau makan, rambut kusam atau rontok.
- b) Tikus yang melahirkan terlalu cepat.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Terkait

Kadar Hemoglobin darah tikus putih.

4.3.2. Variabel Bebas

Paparan uap rokok elektrik dan *infused water* lemon.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi Penelitian

Pemeliharaan dan perlakuan pada tikus yang dipaparkan uap rokok elektrik dengan pemberian perasan jeruk lemon dilakukan di laboratorium Farmakologi dan parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Dan pemeriksaan Hemoglobin di Laboratorium Panglima Sudirman Malang.

4.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Desember 2019 - Februari 2020.



4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1. Alat Penelitian

A. Alat Pemeliharaan

Alat pemeliharaan hewan coba menggunakan kandang tikus yang berupa kotak plastik dengan berukuran 12 x 35 x 43 cm sebanyak 10 buah, dengan bagian atas yaitu tutup kandang terbuat dari kayu dilapisi dengan kawat kasa, botol air, dan bagian bawah terdapat sekam gabah beras. Masing-masing kandang ditempatkan 3 ekor tikus bunting.

B. Alat Penimbangan Berat Badan

Alat penimbangan berat badan pada hewan coba menggunakan neraca digital.

C. Alat Pakan

Alat pembuatan makanan pada hewan coba dengan menggunakan: baskom plastik, timbangan, dan sarung tangan.

D. Alat Membuat *Infused Water Lemon*

Alat untuk membuat *infused water lemon* : gelas ukur, pisau, gelas plastik, timbangan dan talenan.

E. Alat Pemberian *Infused Water Lemon*

Alat untuk pemberian *infused water lemon* kepada hewan coba yaitu: sonde dan spuit 3ml.



F. Alat Pemaparan Uap Rokok Elektrik

Alat pemaparan uap rokok elektrik : baterai, automizer (RDA), MOD, tombol power, kapas dan *liquid*. Box pemaparan dan ditambah dengan selang penyalur uap rokok (sput 50cc).

G. Alat Pembedahan

Alat untuk pembedahan antara lain: handscoon, alas, kapas, scalpel, gunting, pinset, jarum pentul.

H. Alat Pengambilan Darah

Alat pengambilan darah tikus antara lain : handscoon, spuit 3cc dan tabung EDTA.

I. Alat Pemeriksaan Darah

Pemeriksaan darah diukur dengan menggunakan alat ABX micros 60 (*Hematology Analyzer*), untuk mengetahui kadar hemoglobin tikus putih.

4.5.2. Bahan Penelitian

A. Bahan Pemeliharaan Pakan

Pakan standart yang terdiri dari BER1 dengan porsi 40 gram/hari/ekor, dan minuman hewan coba dengan air mineral.

B. Bahan Uap Rokok Elektrik

Rokok elektrik dengan kandungan *liquid* sebesar nikotin 0,9 miligram dalam 1x pemaparan. Dengan perbandingan PG (*Propylene Glycol*):VG (*Vegetable Glycerin*) (30%: 70%)

**C. Bahan Infused Water Lemon**

Infused water lemon. Lemon dibeli dari pedagang yang memiliki perkebunan buah di Kebunagung, Kota Malang. Air mineral merk aqua.

D. Bahan Pemeriksaan Darah

Bahan untuk pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menggunakan ABX Micros 60 (*Hematologi Analyzer*).

E. Bahan Terminasi

Ketamine dengan 0,2 cc.

$$\frac{100 \text{ mg} \times 200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} = 20 \text{ mg}$$

$$\frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$



4.6 Definisi Operasional

Variable	Definisi Operasional	Skala	Satuan
Rokok elektrik	Pemberian paparan uap rokok elektrik pada tikus bunting menggunakan box yang dibantu dengan selang penyalur uap rokok elektrik di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, tikus bunting diapaparkan uap rokok mulai dari usia ke-1 kebuntingan sampai dengan usia ke-18 kebuntingan, dengan kadar nikotin 9 ml. Dilakukan setelah diberikan <i>Infused water</i> lemon	Rasio	ml/hari
<i>Infused water</i> lemon	Pemberian <i>Infused water</i> lemon diberikan pada tikus bunting, menggunakan sonde dan spuit sebanyak 3 cc, dimulai dari usia ke-1 kebuntingan sampai usia ke-18 kebuntingan, diberikan pada kelompok perlakuan : P1 : 3 ml (0,75 g lemon) P2 : 3 ml (1,5 g lemon) P3 : 3 ml (3 g lemon)	Rasio	ml/hari
Kadar Hb	Menghitung kadar hemoglobin tikus bunting pada setiap kelompok perlakuan. Dengan diambil darah pada jantung tikus sebanyak 3 ml. Analisis kadar Hb dengan menggunakan ABX Micros 60 (<i>Hematologi Analyzer</i>)	Rasio	g/dl



4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1. Prosedur Pembuntingan Hewan Coba

Pembuntingan tikus dilakukan pada fase estrus dimana tikus betina sudah siap untuk kawin dan mau didekati oleh tikus jantan. Pembuntingan dilakukan dengan mencampurkan hewan jantan dan betina dalam satu tempat dengan perbandingan 1:1 selama minimal 1 hari dan maksimal 5 hari pada pukul 16.00 WIB dan dipisahkan pada pukul 05.00 WIB. Jika ditemukan *vaginal plaque*, maka hari tersebut dihitung mulainya tikus bunting.

4.7.2. Penentuan Dosis

4.7.2.1. Penentuan Dosis Rokok Elektrik

Dalam 60 ml *liquid* terdapat 9 mg nikotin. Maka, 1 ml *liquid* terdapat 0,15 mg nikotin. Sehingga penelitian ini menggunakan perhitungan: 20 tetes *liquid* yang setara dengan 2 ml *liquid*, 1x pemaparan diberikan 3x penguapan rokok elektrik selama 7 menit 30 detik. Total *liquid* yang diberikan adalah 6 ml *liquid*. Maka, total nikotin yang diberikan dalam 1x pemaparan rokok elektrik adalah 0,9 mg nikotin.

Note: *1 tetes *liquid* setara dengan 0,15 mg nikotin

* 1 pemberian sama dengan 20 tetes

4.7.2.2. Penentuan Dosis *Infused Water Lemon*

Peneliti ingin melihat efektivitas dari *infused water lemon* dari berbagai berat buah lemon yang direndam pada 100 ml air, yaitu



dengan memasukkan buah lemon yang telah diiris, lalu ditimbang sesuai dengan yang dibutuhkan, selanjutnya dimasukkan kedalam air dalam gelas plastik dan didiamkan dalam *refrigerator* selama 12 jam.

Pemberian dosis untuk masing-masing perlakuan pada tikus bunting adalah 3 ml/hari.

- Dosis perlakuan 1 (P1) dengan perbandingan antara air dan buah lemon adalah:

$$\frac{25 \text{ gram lemon}}{100 \text{ ml air}}$$

- Dosis perlakuan 2 (P2) dengan perbandingan antara air dan buah lemon adalah:

$$\frac{50 \text{ gram lemon}}{100 \text{ ml air}}$$

- Dosis perlakuan 3 (P3) dengan perbandingan antara air dan buah lemon adalah:

$$\frac{100 \text{ gram lemon}}{100 \text{ ml air}}$$

(Sidauruk, 2018).

Kelompok P1 (25 g lemon/ 100 ml air) memberikan dosis pada 1 ekor tikus bunting sebesar (0,75 g lemon/ 3 ml air). Kelompok P2 (50 g lemon/ 100 ml air) memberikan dosis Pada 1 ekor tikus bunting sebesar (1,5 g lemon/ 3 ml air) dan kelompok P3 (100 g lemon/ 100 ml air) memberikan dosis pada 1 ekor tikus bunting sebesar (3 g lemon/ 3 ml air).



4.7.3. Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba dipelihara dalam laboratorium selama satu minggu dengan temperatur ruang yang konstan 18-26°C. Tempat pemeliharaan hewan tikus yaitu menggunakan kotak plastik berukuran 12 x 35 x 43 cm, untuk masing-masing tikus, maka terdapat 10 wadah, ditutup dengan kawat kasa dan diberi alas sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Porsi makan tikus adalah 40 gr/hari/ekor dan pemberian minum secara *ad libitum* menggunakan air mineral yang diganti setiap satu hari sekali.

4.7.4. Prosedur Pemberian *Infused Water* Lemon

Infused water lemon dibuat secara mandiri dengan mendapatkan lemon langsung dari perkebunan lemon yang berada di Kebonagung Kota Malang. Pemberian infus water lemon dengan cara memasukkan sonde ke dalam mulut tikus sampai dengan lambung dengan spuit ukuran 3 ml. Mulai pemberian *infus water* pada usia tikus yaitu saat dinyatakan bunting, yaitu dihitung hari ke-1. Lalu akan dipapar uap rokok elektrik dan diberikan *infused water* lemon pada hari ke-1 sampai hari ke-18, dan hari ke-19 dilakukan pembedahan. Infus water lemon diberikan sebelum dilakukan paparan uap rokok elektrik. *infus water* sendiri berfungsi sebagai antioksidan.

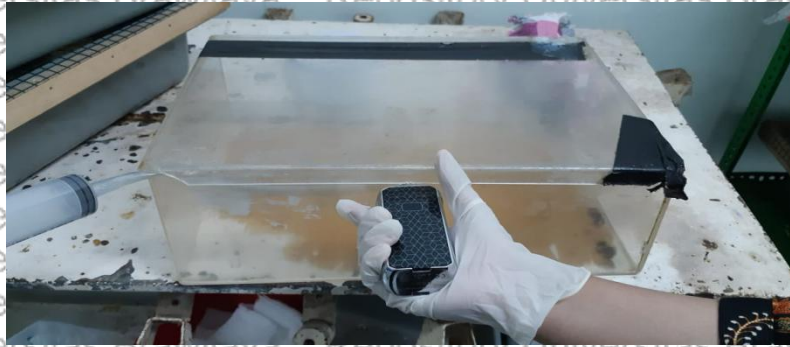
4.7.5. Prosedur Paparan Uap Rokok Elektrik pada Hewan Coba

Paparan uap rokok elektrik dilakukan setelah pemberian *infus water* lemon, dimulai saat tikus dinyatakan bunting. Mulai kebuntingan pada tikus dihitung sebagai hari 1 kebuntingan. Tikus dimasukkan kedalam box



pemaparan sebanyak tiga tikus, lalu akan dipapar uap rokok elektrik yang bantu dengan selang penyalur uap rokok elektrik:

- a. Tikus ditimbang berat badannya dengan neraca analitik sebelum dipapar uap rokok elektrik.
- b. Tempat pemaparan uap rokok dibersihkan dari sisa asap.
- c. Alat vape diperiksa sudah siap, yaitu kapas dalam keadaan kering, *liquid* diberikan 60 tetes dalam 1x pemberian, MOD dalam keadaan 55 Watt, dan 0,20 Ω , batterai dalam keadaan penuh dan dapat digunakan.
- d. Alat rokok elektrik (MOD) dimasukkan ke dalam lubang box pemaparan.
- e. Tiga ekor tikus bunting dimasukkan kedalam box pemaparan dan segera ditutup.
- f. Setiap dilakukan pemaparan (tombol power pada MOD ditekan untuk mengeluarkan asap dan diabantu oleh selang penyalur yang dihubungkan pada spuit, guna untuk memperbanyak uap yang keluar) , selama 60x dalam 1x pemberian (\pm 7,5 menit). Setelah waktu habis tutup dibuka dan selanjutnya tikus segera dipindahkan ke kandang semula.
- g. Setiap pemaparan berikutnya, kotak selalu dibersihkan terlebih dahulu dari sisa uap rokok perlakuan sebelumnya.
- h. Tahap-tahap diatas diulangi untuk kelompok tikus berikutnya dan pemaparan berikutnya.



Gambar 4.1 Rangkaian alat rokok elektrik

(Sumber: Dokumentasi mandiri, Lab Farmako FKUB)

4.7.6. Prosedur Terminasi

Tikus diterminasi pada hari ke-19 dengan diberikan injeksi ketamine dengan 0,2 cc pada paha tikus secara IM.

4.7.7. Prosedur Pembedahan

Pada hari ke-19 setelah diberi perlakuan, tikus dibedah untuk dilakukan pengambilan darah tikus. Sebelum dilakukan pembedahan tikus diterminasi, dan ditunggu sampai tikus tidak sadar, lalu dilakukan pembedahan.

4.7.8. Pengambilan Kadar Hemoglobin

Pada hari ke-19 dilakukan pengengambilan darah pada tikus bunting, pengambilan darah dari jantung tikus sebanyak 3ml dengan menggunakan spuit 3 ml. Kemudian sampel darah dipindahkan kedalam tabung yang telah diberikan EDTA. Pemberian EDTA berguna untuk agar darah tidak cepat membeku.



4.7.9. Prosedur Pengukuran Kadar Hemoglobin

Sampel darah diperiksa dengan alat ABX Micros 60 (*Hematologi Analyzer*).

Dengan langkah-langkah sebagai berikut

1. Prinsip penggunaan alat berdasarkan spesifikasi ukuran sel yang melewati filter dengan memakai tegangan listrik untuk sekali pembacaan bisa diperiksa sekaligus beberapa parameter darah lengkap.
2. Cara kerja menggunakan alat ABX Micros 60 yaitu dengan menyalakan switch utama terletak di belakang instrumen.
3. Setelah lampu indikator menyala maka tekan tombol *start up* dan secara otomatis alat akan melakukan pembilasan dan melakukan pemeriksaan reagen jika lolos maka alat akan menampilkan nilai nol untuk setiap parameter pemeriksaan dan jika tidak maka secara otomatis alat akan melakukan pembilasan ulang dan melakukan pemeriksaan reagen sampai 3 kali sehingga didapatkan angka nol untuk setiap parameter pemeriksaan nya.
4. Tekan tombol *start*.
5. Siapkan bahan pemeriksaan (darah yang telah dicampur dengan EDTA).
6. Tekan tombol *ID*, tekan tombol *enter* tunggu sampai dengan jarum penghisap darah keluar.



7. Tempelkan alat penghisap sampel dasar tabung lalu tekan sampel bar sampai jarum masuk kembali dan melakukan pemeriksaan.

8. Alat akan memproses sampel selama 1 menit dan hasil pemeriksaan akan terlihat pada layar.

9. Untuk mematikan alat, tekan stand by maka alat akan mencuci selama 1 menit, setelah itu layar padam matikan alat dengan menekan switch utama yang berada di bagian belakang.

4.8 Teknik Analisis Data

Hasil pemeriksaan kadar hemoglobin pada darah tikus antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dianalisa secara statistik menggunakan program *Statistical Package for the Social Science (SPSS)* 25.

Analisa hasil penelitian pertama dilakukan dengan cara uji normalitas, digunakan untuk menguji apakah data berdistribusi normal atau tidak, uji normalitas dapat dikatakan terdistribusi normal jika ($p > 0,05$). Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-wilk*. Saat dilakukan uji normalitas dan didapatkan data normal maka dilakukan uji homogenitas.

Uji homogenitas menggunakan metode *Lenenve Test*, bertujuan untuk mengetahui apakah data homogen atau tidak, dikatakan normal jika nilai $p > 0,05$. Jika data homogen maka langkah selanjutnya adalah pengujian data menggunakan uji *One Way Anova*.

Uji *One Way Anova*, untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan, menilai pengaruh dari variabel independen terhadap variabel dependen, dan untuk melihat kelompok mana sajakah yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$), maka H_0 diterima, dan



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Uji *Post Hoc* menggunakan uji LSD

bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan dengan tingkat kemaknaan 95%.

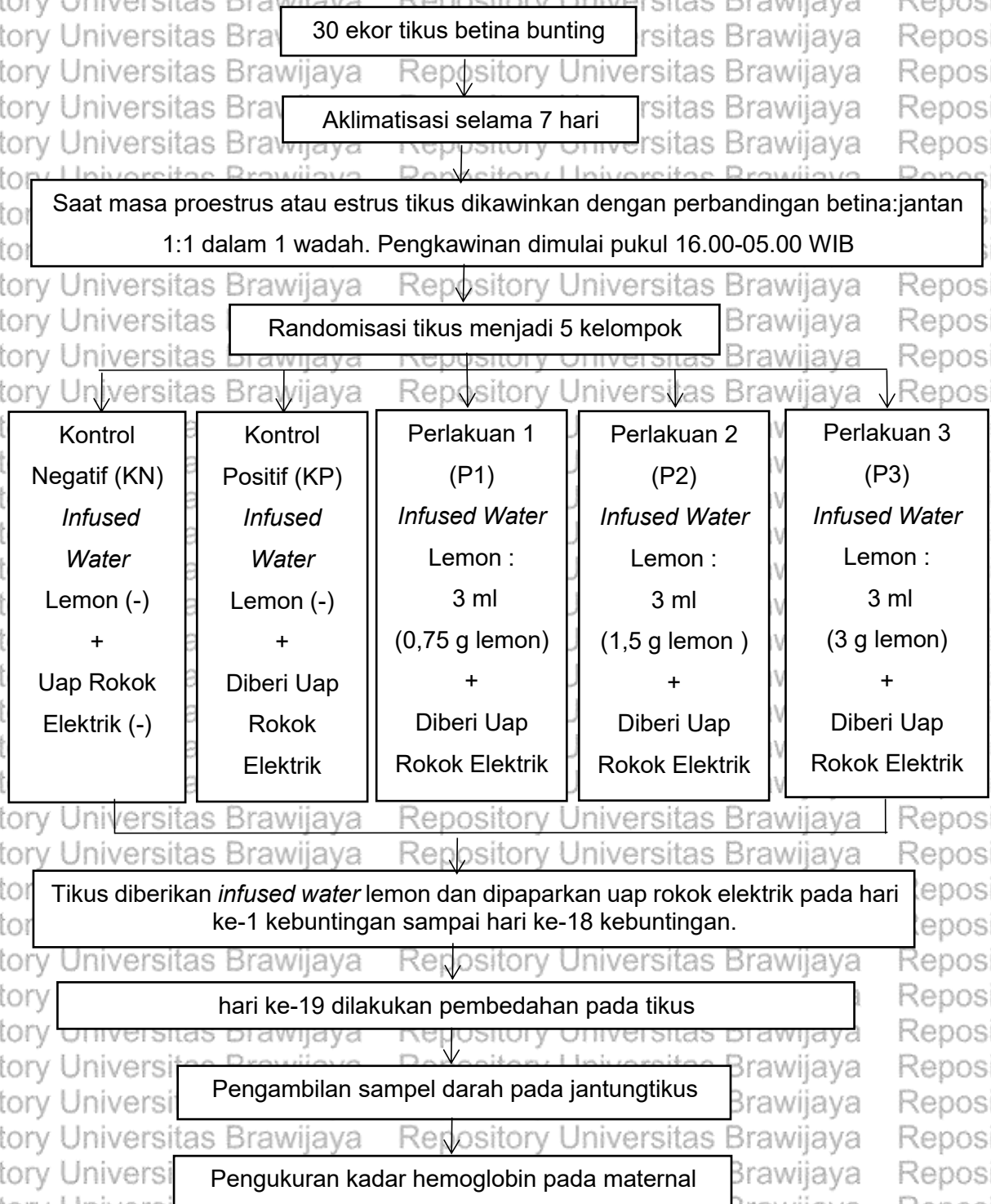
Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya



4.9 Diagram Alur Penelitian





BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

Hasil rata-rata hemoglobin dari sampel darah induk tikus bunting pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok perlakuan dengan 3 dosis yang berbeda: (P1) 3 ml (0,75 g lemon), (P2) 3 ml (1,5 g lemon) dan (P3) 3 ml (3 g lemon) air ditunjukkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 5.1 Rata-Rata Hemoglobin Induk Tikus Bunting yang Dipapar Uap Rokok Elektrik dan *Infused Water* Lemon

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata (g/dL)	Standar Deviasi
KN	11.70	.76811
KP	13.74	1.03344
P1	12.16	1.18448
P2	12.26	1.35204
P3	11.52	1.25379

Keterangan:

KN = tidak diberi *Infused water* Lemon dan tanpa dipapar uap rokok elektrik

KP = tidak diberi *Infused water* Lemon dan dipapar uap rokok elektrik

P1 = diberi *Infused water* Lemon 3 ml (0,75 g lemon) dan dipapar uap rokok elektrik

P2 = diberi *Infused water* Lemon 3 ml (1,5 g lemon) dan dipapar uap rokok elektrik

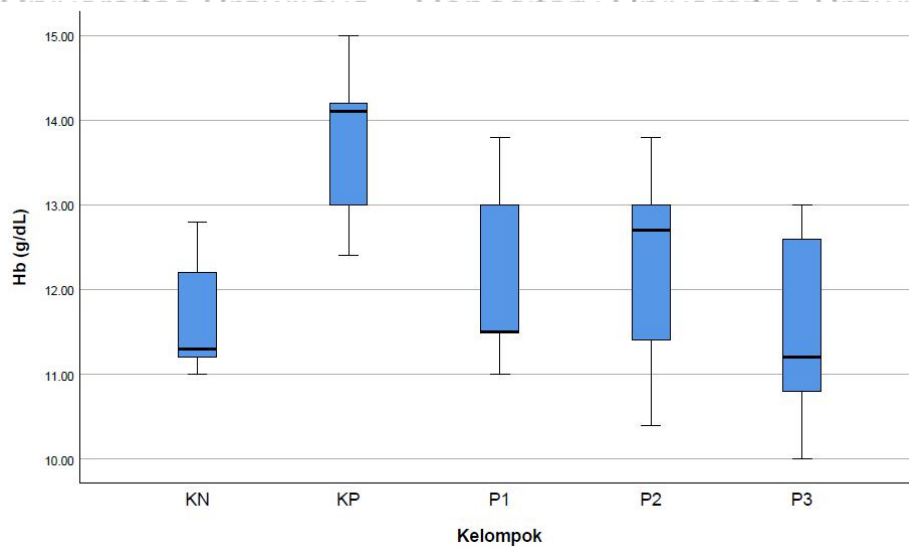
P3 = diberi *Infused water* Lemon 3 ml (3 g lemon) dan dipapar uap rokok elektrik

Pada tabel 5.1 menunjukkan hasil dari rata-rata hemoglobin pada kelompok KP (13.74 g/dL) lebih tinggi dari kelompok KN (11.70 g/dL). Pada kelompok perlakuan dengan diberikan 3 dosis yang berbeda didapatkan kadar hemoglobin lebih rendah dari kelompok yang dipapar uap rokok elektrik, kelompok P1 dengan pemberian *Infused water* Lemon 3 ml (0,75 g lemon) (12.16 g/dL), kelompok P2 dengan pemberian *Infused water* Lemon 3 ml (1,5 g lemon) (12.26 g/dL) lebih tinggi dari kelompok P1, dan pada kelompok P3 rata-rata hemoglobin semakin



rendah dengan pemberian *Infused water* Lemon 3 ml (3 g lemon) (11.52 g/dL) lebih rendah dari kelompok KN yang tanpa dipapar uap rokok elektrik maupun pemberian *Infused water* Lemon.

Berikut grafik grafik yang menggambarkan rata-rata hemoglobin pada induk tikus bunting:



Gambar 5.1 Rata-rata hemoglobin tikus bunting

Keterangan:

- KN = tidak diberi *Infused water* Lemon dan tanpa dipapar uap rokok elektrik
- KP = tidak diberi *Infused water* Lemon dan dipapar uap rokok elektrik
- P1 = diberi *Infused water* Lemon 3 ml (0,75 g lemon) dan dipapar uap rokok elektrik
- P2 = diberi *Infused water* Lemon 3 ml (1,5 g lemon) dan dipapar uap rokok elektrik
- P3 = diberi *Infused water* Lemon 3 ml (3 g lemon) dan dipapar uap rokok elektrik

5.2 Analisa Data

Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) 25.0 for Windows.

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk

	Statistic	df	Sig.
Hb	.964	25	.502



Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hb	.766	4	20	.560

Sebelum dilakukan uji *one-way ANOVA*, data akan diuji terlebih dahulu dengan uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk didapatkan hasil sig=0.502 ($p>0,05$), dimana dapat disimpulkan bahwa data dari lima kelompok terdistribusi normal. Setelah data terdistribusi normal maka dilanjutkan uji homogenitas dan didapatkan hasil sig=0.560 ($p>0,05$) yang menunjukkan varian data tersebut bersifat homogen. Hasil uji normalitas dan homogenitas merupakan syarat untuk melakukan uji lanjutan yaitu uji *one-way ANOVA*.

Tabel 5.4 Uji One-Way ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.302	4	3.825	2.960	0.045

Uji *one-way ANOVA* diperoleh nilai $p=0.045$ ($p<0,05$) sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan hemoglobin tikus bunting pada lima kelompok perlakuan. Pemberian *infused water* lemon memberikan pengaruh yang berbeda pada tiga kelompok perlakuan yang di berikan *Infused Water* lemon dan dipapar uap rokok elektrik.

Tabel 5.5 Hasil Uji LSD Terhadap Data Hemoglobin (Hb) Tikus Setelah Dilakukan Uji One Way ANOVA

P-value	KN	KP	P1	P2	P3
KN		0,010*	0,530	0,445	0,805
KP			0,040*	0,053	0,006*
P1				0,891	0,384
P2					0,316

**p-value*<0,05 adalah bermakna



Metode *post hoc* yang digunakan adalah uji LSD. Uji tersebut untuk mengetahui kelompok mana saja yang yang memiliki perbedaan bermakna. Berdasarkan hasil pengujian tersebut didapatkan hasil bahwa kelompok KN memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok KP $p=0,010$ ($\text{sig}<0,05$), lalu pada kelompok KP memiliki perbedaan yang bermakna dengan Kelompok P1 dan P3 ($p=0.040$ dan $p=0.006$).



BAB 6

PEMBAHASAN

Infused water lemon adalah salah satu minuman yang sering dikonsumsi oleh masyarakat luas. Buah lemon memiliki berbagai kandungan didalamnya, diantaranya yaitu: asam sitrat, minyak astri, vitamin C, bioflavonoid, polifenol, kumarin, flavonoid. Salah satu kandungan yang paling besar pada buah lemon adalah vitamin C sebesar 88% yang berada pada daging buah lemon (Mohanapriya, 2013). Pengkonsumsian buah lemon digunakan sebagai antioksidan pada masyarakat luas dan dapat dikonsumsi pada ibu hamil. Banyak orang yang tidak mengonsumsi lemon secara langsung, hal ini dikarenakan rasa lemon yang sangat asam dengan nilai pH rendah yaitu 2,74 (Manner et al., 2006).

Sehingga orang mengonsumsi lemon dengan cara memasukkan potongan lemon kedalam air minum, yang dapat disebut juga sebagai minuman *infused water* lemon. Rasa lemon pada *infused water* lemon tidak seasam jika dibandingkan dengan seseorang yang mengonsumsi lemon secara langsung.

Berdasarkan hasil analisis didapatkan rata-rata hemoglobin tertinggi yaitu terdapat pada kelompok kontrol positif sebesar 13,74 g/dL dan pada kelompok kontrol negatif sebesar 11,70 g/dL, didapatkan hasil yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif yaitu $\text{sig}=0,010$ ($\text{sig}<0,05$). Hal tersebut dapat diartikan bahwa hemoglobin pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan.

Rendahnya hemoglobin pada kelompok kontrol negatif dikaitkan dengan perubahan sirkulasi darah pada kehamilan. Pada kehamilan terdapat peningkatan pada volume plasma darah sehingga terjadinya *Hipervolemia* atau *Hidremia*, tetapi jumlah produksi sel-sel darah merah dengan volume plasma tidak

sebanding. Peningkatan pada volume plasma lebih tinggi dibandingkan dengan bertambahnya sel-sel darah merah. Peningkatan volume plasma pada kehamilan mengakibatkan hemodilusi (pengenceran darah). Perbandingan volume plasma sebagai berikut: plasma 30%, sel darah 18% dan hemoglobin 19%. Keadaan tersebut akan menurunkan kadar hemoglobin dan dapat dikatakan sebagai anemia fisiologi. Bertambahnya darah dalam kehamilan dimulai pada minggu ke-10 kehamilan dan mencapai puncaknya antara minggu ke-32 kehamilan dan minggu ke-36 kehamilan. Jika dilihat dari hasil statistik rata-rata hemoglobin sebesar 11,70 g/dL, dengan hasil rata-rata tersebut hemoglobin pada tikus bunting masih dalam batas normal. Menurut Kim J.C (2000) hemoglobin pada tikus bunting normalnya 11,50 g/dL - 15,40 g/dL. Hal ini sejalan dengan penelitian pada Prawirohardjo (2007), yang mengatakan bahwa ibu hamil akan mengalami penurunan hemoglobin karena adanya kenaikan plasma pada kehamilan yang menyebabkan terjadinya hemodelusi.

Sedangkan pada kelompok kontrol positif yang diberikan paparan uap rokok elektrik 9 mg nikotin dapat menyebabkan hemoglobin pada tikus bunting meningkat. Hal ini dikarenakan adanya karbon monoksida (CO) berlebih yang diproduksi oleh uap rokok elektrik lalu dihirup oleh tikus bunting lalu diserap dalam alveoli paru-paru dan terikat pada hemoglobin yang membentuk karboksihemoglobin (COHb). Adanya karbon monoksida dapat mengakibatkan oksigen (O_2) tidak dapat berikatan dengan hemoglobin. Karbon monoksida dapat mengikat hemoglobin 220 - 250 kali lebih kuat dibandingkan dengan oksigen mengikat hemoglobin. Sehingga penyebaran oksigen dari paru-paru keseluruhan tubuh terbatas, hal ini dapat disebut dengan hipoksia jaringan (Amelia, 2016). Dalam darah perokok, kadar COHb lebih tinggi (4% - 7%) bila dibandingkan



dengan kadar dalam darah bukan perokok (1% - 2% COHb) (Vukomanovic, 2011).

Salah satu organ yang mendeteksi terjadinya hipoksia jaringan adalah ginjal.

Pada beberapa penelitian ditemukan bahwa erythropoietin disekresikan oleh fibroblast yang mengelilingi tubulus di korteks dan medula, di mana bagian dari ginjal tersebut merupakan bagian yang paling banyak menerima oksigen. Jika pada bagian ginjal tersebut mengalami penurunan dalam menerima oksigen, maka ginjal akan memproduksi hormon eritropoietin dan memberikannya sinyal pada organ hati untuk memproduksi hormon eritropoietin (EPO) (Tambayong, 2000; Hall, 2016). Eritropoietin (EPO) adalah pengatur utama untuk memproduksi sel darah merah (Bebit, 2012).

Produksi eritropoietin yang paling tinggi diproduksi pada ginjal sebesar 90%, sedangkan sisanya terbentuk di hati (Hall, 2016). Jumlah produksi eritropoietin tergantung pada jumlah oksigen yang diterima oleh ginjal, semakin sedikit ginjal menerima oksigen maka semakin banyak eritropoietin diproduksi, begitupun pada hati. Eritropoietin berfungsi untuk mengirim sinyal pada sumsum tulang atau sumsum merah dari tulang membranosa, pengaktifan eritropoietin digunakan untuk memproduksi eritropoesis (Tambayong, 2000). Sumsum merah adalah tempat dimana pembentukan sel darah putih maupun sel darah merah (Damping, 2012).

Pembentukan sel darah merah secara berlebih digunakan untuk mengkompensasi hipoksia jaringan. Produksi sel darah merah untuk mengatasi hipoksia jaringan memerlukan waktu yang sangat cepat, yaitu mulai terbentuk dalam hitungan menit hingga jam dan mencapai produksi maksimal 24 jam atau 1 hari. Sedangkan pada orang normal, produksi sel darah merah sekitar 100-120



hari, setelah 120 hari tersebut sel darah merah akan lisis, dan digantikan dengan sel darah baru (Hall, 2016; Tjokroprawiro, 2015). Berlebihnya produksi sel darah merah dapat meningkatkan hemoglobin. Produksi sel darah merah berlebih dapat dikatakan sebagai polisitemia (Laloan, 2018; Setyaningsih, 2018). Penelitian ini selaras dengan Okuni-Watanabe (2019) yang mengatakan bahwa rokok elektrik dapat meningkatkan hemoglobin. Adapun penelitian yang terbaru, mengungkapkan bahwa rokok elektrik dapat mengakibatkan polisitemia (Okuni, 2019). Menurut Isager (1971) mengatakan bahwa penggunaan rokok pada wanita tidak hamil dan laki-laki dapat meningkatkan produksi eritropoiesis sehingga mengakibatkan peningkatan kadar hemoglobin. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Amelia (2006) melihat peningkatan hemoglobin yang dihubungkan dengan derajat merokok berdasarkan indeks Brinkman. Penelitian ini membagi sampel dalam tiga kelompok yaitu, kelompok perokok ringan, sedang, dan berat mulai dari usia 19-59 tahun. Metode indeks Brinkman adalah menghitung jumlah rokok yang dihisap perhari dan lamanya merokok. Didapatkan hasil kadar hemoglobin sesuai dengan pengonsumsi rokok perhari, yaitu hemoglobin pada kelompok perokok ringan sebesar 15,04 g/dL ($10,33 \pm 6,82$ perhari), kelompok sedang (15,56 g/dL) ($20,19 \pm 7,40$ perhari), dan kelompok berat (15,45 g/dL) ($32,35 \pm 10,15$ perhari). Sehingga pada penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa perokok berat dapat meningkatkan kadar hemoglobin. Hal serupa juga diungkapkan oleh Leifert (2008), bahwa seseorang yang merokok lebih dari 40 batang perhari dapat meningkatkan kadar hemoglobin sebesar 0,7 gr/dl lebih tinggi dibanding dengan orang yang tidak merokok.

Sedangkan untuk kandungan nikel yang berada dalam *liquid* mempunyai cara kerja yang hampir sama dengan karbonmonoksida. Pada beberapa literatur



mengatakan kandungan nikel yang masuk kedalam tubuh akan menghasilkan reaksi radikal bebas, dimana radikal bebas akan membuat keadaan tubuh menjadi dalam keadaan hipoksia. Sehingga keadaan hipoksia yang disebabkan oleh nikel dan karbonmonoksida dapat mengaktifkan sinyal hormon eritropoietin untuk memproduksi eritropoiesis sebagai pembentukan sel darah merah. Sehingga pembentukan sel darah merah yang secara berlebih akan mengakibatkan terjadinya polisitemia (Das, 2008). Penelitian ini sejalan dengan Jasmin (1975) yang mengatakan bahwa tikus yang diberikan nikel pada dalam tubuh maka akan menghasilkan reaksi hiposia yang nantinya akan mengaktifkan hohmon EPO pada ginjal, sehingga terjadinya peningkatan produksi sel darah merah yang mengakibatkan terjadinya polisitemia.

Produksi sel terus berlanjut selama orang tersebut tetap dalam keadaan oksigen rendah atau sampai sel darah merah yang cukup telah diproduksi untuk membawa oksigen ke jaringan. Ketika hemoglobin yang diproduksi tubuh cukup untuk berikatan dengan oksigen, atau jaringan sudah tidak dalam hipoksia. Maka ginjal akan menekan produksi hormon eritropoietin (Hall, 2016). Tingginya hemoglobin pada ibu hamil dapat mengakibatkan bayi kecil masa kehamilan (KMK) dengan kehamilan tidak prematur (Scanlon, 2000).

Hasil dari penelitian ini berbeda dengan hipotesis sebelumnya yang mengatakan bahwa paparan uap rokok elektrik dapat menurunkan kadar hemoglobin. Hipotesis sebelumnya sejalan dengan Safitri (2015) yang mengatakan bahwa ibu hamil yang berdekatan dengan perokok aktif 1-2 orang dapat menyebabkan anemia pada ibu hamil 5,54 kali lebih besar dari ibu hamil yang memiliki lingkungan bebas asap rokok, dan ibu hamil yang terkena paparan rokok selama ≤ 15 menit mempunyai risiko mengalami anemia 6,33 kali lebih



besar dari ibu hamil yang tidak terpapar asap rokok. Penurunan Hb pada ibu hamil karena paparan uap rokok terjadi karena *cotinine* (suatu metabolit nikotin) akan menekan pembentukan koloni dari *colony forming uniterythroid* (CFU-E) dan *burst forming unit-erythroid* (BFU-E). CFU-E dan BFU-E mempunyai fungsi kerja yaitu sebagai penghambat pembentukan eritropoiesis, sehingga produksi sel darah merah berkurang dan mengakibatkan anemia (Takahashi, 1999). Selain itu penurunan kadar hemoglobin terjadi karena adanya stress oksidatif. Dimana radikal bebas (ROS) dalam tubuh mengalami peningkatan yang melebihi sistem pertahanan antioksidan, sehingga terjadilah stress oksidatif. Stress oksidatif yang terjadi pada sel darah merah dapat mengakibatkan penurunan pada produksi kadar eritropoietin sehingga mengganggu pembentukan sel darah merah (Waggiallah, 2011). Selain itu stress oksidatif juga mengakibatkan integritas sel darah merah menjadi lemah sehingga sel darah merah mudah lisis (Fibach, 2008).

Pada penelitian ini tikus bunting yang terdapat didalam kelompok P1, P2, dan P3 diberikan *Infused water* lemon dengan masing-masing dosis sebesar 25 gram/ 100 ml, 50 gram/ 100 ml dan 100 gram/ 100 ml. *Infused water* lemon diberikan pada hari kebuntingan ke-1 sampai hari ke-18, *Infused water* lemon diberikan sebelum dilakukan pemaparan uap rokok elektrik. Pemberian *Infused water* lemon pada kelompok perlakuan satu (P1) dengan dosis 25 gram/ 100 ml air pada tikus yang dipapar uap rokok elektrik menghasilkan rata-rata kadar hemoglobin 12.16 g/dL. Pada kelompok perlakuan dua (P2) dengan dosis 50 gram/ 100 ml air pada tikus yang dipapar uap rokok elektrik menghasilkan rata-rata kadar hemoglobin 12.26 g/dL. Dan untuk kelompok perlakuan tiga (P3) dengan dosis 100 gram/ 100 ml air pada tikus yang dipapar uap rokok elektrik menghasilkan rata-rata kadar hemoglobin 11.52 g/dL. Setelah mengetahui





rata-rata dari setiap kelompok perlakuan, maka selanjutnya akan di uji secara statistik dengan uji *post hoc* LSD ($\text{sig} < 0,05$) untuk mengetahui apakah masing-masing data tersebut memiliki nilai yang signifikan atau dalam artian *infused water* lemon memiliki pengaruh terhadap kelompok negatif (KN) atau kelompok perlakuan (KP).

Hasil pada uji *post hoc* LSD pada kelompok perlakuan satu (P1) dibandingkan dengan kelompok negatif (KN) didapatkan hasil yang tidak signifikan ($p=0,530$) sedangkan kelompok perlakuan satu (P1) dibandingkan dengan kelompok perlakuan (KP) didapatkan hasil yang signifikan ($p=0,040$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *infused water* lemon sebesar 25 gram/ 100 ml air pada kelompok perlakuan satu (P1) dapat menurunkan kadar hemoglobin pada tikus bunting kelompok positif (KP).

Kelompok perlakuan dua (P2) dibandingkan dengan kelompok negatif (KN) didapatkan hasil yang tidak signifikan ($p=0,445$) sedangkan pada kelompok perlakuan dua (P2) dibandingkan dengan kelompok perlakuan (KP) didapatkan hasil yang tidak signifikan ($p=0,053$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *infused water* lemon pada kelompok P2 tidak didapatkan hasil yang signifikan, tetapi jika dilihat dari hasil rata-rata kadar hemoglobin terdapat peningkatan pada KN sebesar (11.70 g/dL) meningkat menjadi 12.26 g/dL pada kelompok P2. Sedangkan pada kelompok P2 yang diberikan paparan uap rokok elektrik dan *infused water* lemon mengalami penurunan kadar hemoglobin pada tikus bunting sebesar 12.26 g/dL dari kelompok KP sebesar 13.74 g/dL.

Sedangkan pada kelompok perlakuan tiga (P3) dibandingkan dengan kelompok perlakuan negatif (KN) didapatkan hasil yang tidak signifikan ($p=0,805$) sedangkan pada kelompok P3 dibandingkan dengan KP terdapat nilai yang



signifikan ($p=0,06$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *infused water* lemon sebesar 100 gram/ 100 ml air pada kelompok perlakuan tiga (P3) (11,52 g/dL) dapat menurunkan kadar hemoglobin pada tikus bunting kelompok positif (KP) (13,74 g/dL).

Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) menurun dibandingkan dengan KP. Hal tersebut dikarenakan kelompok perlakuan yang dipapar uap rokok elektrik diberikan *infused water* lemon sebagai antioksidan. Mengingat kembali bahwa peningkatan kadar hemoglobin yang disebabkan oleh karbon monoksida yang berikatan dengan oksigen (O_2) sehingga oksigen tidak dapat berikatan dengan hemoglobin. Selain itu karbon monoksida yang dihirup oleh ibu hamil dapat menyebabkan radikal bebas atau meningkatkan radikal bebas dalam tubuh. Selain COHb yang dapat meningkatkan Hemoglobin maupun radikal bebas, nikel (Ni) yang merupakan salah satu komponen rokok elektrik juga dapat meningkatkan hemoglobin dan radikal bebas (Das, 2001). Penelitian ini sejalan dengan Lovita (2016), mengatakan bahwa asap rokok dapat meningkatkan kadar hemoglobin tikus bunting. Radikal bebas adalah suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Kusbandari, 2017). Untuk mengurangi radikal bebas maka tikus bunting harus diberikan antioksidan. Antioksidan yang diberikan adalah *infused water* lemon.

Infused water lemon adalah salah satu minuman yang sering dikonsumsi oleh masyarakat luas. Dimana jenis minuman ini yaitu gabungan air putih dan beberapa potongan lemon, sehingga minuman tersebut memiliki aroma dan rasa lemon didalamnya, hal ini dikarenakan unsur-unsur didalam lemon dapat keluar dan bercampur dengan air (Sidauruk, 2018). Buah lemon memiliki berbagai



kandungannya, dimana salah satu kandungan yang paling besar pada buah lemon adalah vitamin C sebesar 88% yang berada pada daging buah lemon (Mohanapriya, 2013). *Infused water* lemon dapat dikonsumsi sebagai antioksidan oleh masyarakat luas dan dapat dikonsumsi oleh ibu hamil. Kebanyakan orang tidak mengonsumsi lemon secara langsung, hal ini dikarenakan rasa lemon yang sangat asam (Manner et al., 2006). Agar saat dikonsumsi tidak terlalu asam, maka dibuat *infused water* lemon.

Pada penelitian kali ini, peneliti menggunakan buah lemon sebagai antioksidan hal ini dikarenakan antioksidan yang terdapat pada buah lemon (*Citrus limon*) sangat tinggi dibandingkan dengan jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) (Permata dkk, 2018). Telah diketahui banyak sekali kandungan yang terdapat pada lemon untuk dijadikan sebagai antioksidan. Menurut De Oliveira (2004), mengatakan bahwa ibu hamil yang merokok akan kekurangan vitamin C lebih banyak dalam tubuhnya dibanding dengan ibu hamil yang tidak merokok. Menurut Duarte (2005) Vitamin C merupakan antioksidan yang paling tinggi untuk menekan radikal bebas, selain itu vitamin C merupakan lini pertama sebagai antioksidan (Pehlivan, 2017).

Vitamin C atau bisa disebut dengan asam askorbat merupakan vitamin yang larut dalam air. Mekanisme kerja vitamin C terhadap radikal bebas sehingga membuat hemoglobin menurun yaitu dengan cara vitamin C memberikan atau mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas sehingga dapat berkurang atau menghentikan serangan dari radikal bebas (oksigen reaktif) (Ifada, 2018; Khairun, 2018; Kusbandari, 2017). Vitamin C dapat bereaksi langsung terhadap turunan radikal bebas yaitu ROS, seperti: anion superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Dimana cara kerja asam askorbat sendiri yaitu akan mendonorkan satu



elektronnya sehingga menjadi semidehidroaskorbat (SDA) lalu akan mengalami reaksi disproporsionasi menjadi asam dehidroaskorbat (DHA) dan terpecah menjadi asam treonat dan asam oksalat, dimana jika vitamin C berikatan dengan asam oksalat maka hasil akhir dari vitamin C yaitu DHA akan menjadi vitamin C kembali, sehingga tubuh mendapatkan asupan vitamin C secara maksimal.

Sedangkan jika Vitamin C bereaksi dengan superoksida (O_2^-) maka akan menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2). Diketahui bahwa H_2O_2 merupakan turunan dari ROS yang akan dikatalis oleh vitamin C sehingga menghasilkan hidrogen dioksida (H_2O). Vitamin C sendiri juga dapat bereaksi terhadap Fe^{3+} sehingga menjadikan Fe^{2+} (Adawiah, 2015; Rekha, 2012; Widiastuti, 2015).

Menurut Wijaya (2011) mengatakan bahwa radikal reaktif yang akan berikatan dengan Vitamin C maka akan menghasilkan radikal yang tidak reaktif. Sehingga radikal bebas dalam tubuh yang diberikan vitamin C akan mengalami penurunan dan mengakibatkan hipoksia dalam tubuh berkurang.

Didapatkan hasil rata-rata pada kelompok P3 (11,52 g/dL), lebih rendah dari kelompok KN (11,70 g/dL). Hal ini dapat disebabkan karena kelebihan mengkonsumsi antioksidan salah satunya adalah vitamin C. Dapat diketahui bahwa vitamin C mempunyai fungsi sebagai antioksidan tetapi jika mengkonsumsi vitamin C secara berlebih maka fungsi vitamin C akan berubah menjadi prooksidan, sehingga dapat menghasilkan radikal bebas melalui autooksidasi DHA menjadi asam treonat dan asam oksalat. Terdapat reaksi Fenton pada cara kerja vitamin C, yaitu anion askorbil (AH) atau radikal askorbil (AH $^-$) akan mengurangi ions Fe sehingga menghasilkan radikal hidroksil yang reaktif (OH $^-$). Sedangkan reaksi normal pada vitamin C seharusnya Fe^{3+} dapat diubah menjadi Fe^{2+} , dimana Fe^{2+} merupakan komponen yang terdapat didalam



Hb. Sedangkan Jika kelebihan vitamin C dapat meningkatkan radikal hidroksil maka radikal bebas dalam tubuh akan semakin meningkat sehingga dapat terjadi kerusakan jaringan pada tubuh dan terjadi stress oksidatif. Seperti diketahui stress oksidatif dapat mengganggu terjadinya pembentukan sel darah merah dan dapat membuat sel darah merah yang telah dibuat menjadi lemah sehingga mudah lisis. Maka dari itu kadar Hb pada kelompok P3 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok KN (Taqui, 1968; Halliwell, 1978; Hakim, 2012).

Hasil dari pembahasan diatas menunjukkan bahwa kandungan vitamin C pada *infused water* lemon dapat menurunkan kadar hemoglobin, yang dibantu oleh adanya *infused water* lemon sebagai antioksidasi yang dapat menurunkan atau mengurangi radikal bebas sehingga oksigen dapat berikatan lagi dengan hemoglobin. Lala pada organ ginjal akan menekan produksi eritropoietin dan produksi eritropoiesis juga akan berkurang, sehingga kadar hemoglobin dalam batas normal. Sedangkan untuk penjelasan lebih lanjutnya belum ada literatur yang menjelaskan mengenai *infused water* lemon terhadap kadar hemoglobin tikus bunting.

Terdapat beberapa kelemahan pada penelitian ini yaitu : Sulit untuk menentukan usia kehamilan jika hanya dilihat dari vaginal plug, lama membuntingkan tikus karena sebelum dikawinkan harus dilakukan swab vagina terlebih dahulu untuk mengetahui fase proestrus, terdapat faktor lain yang sulit untuk dikontrol yaitu ditemukan salah satu tikus dalam kondisi mati setelah dilakukan pemaparan uap rokok elektrik.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian *infused water* lemon (*Citrus limon*) terhadap kadar hemoglobin tikus bunting (*Rattus norvegicus*) yang dipapar uap rokok elektrik didapatkan hasil bahwa:

1. Paparan uap rokok elektrik menyebabkan peningkatan kadar hemoglobin tikus bunting.
2. Pemberian *infused water* lemon (*Citrus limon*) dapat menurunkan kadar hemoglobin tikus bunting yang dipapar uap rokok elektrik.

7.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dan kesimpulan yang didapat, saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Bagi peneliti selanjutnya
Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang efek samping pengkonsumsian *infused water* lemon (*Citrus limon*) untuk jangka panjang.
2. Pada masyarakat khususnya ibu hamil
 - a. Ibu hamil sebaiknya tidak merekok.
 - b. Ibu hamil sebaiknya menghindari paparan uap rokok elektrik pada lingkungan sekitar dari paparan perokok aktif karena dapat memberikan dampak negatif pada kehamilannya.

DAFTAR PUSTAKA

Action on Smoking and Health (ASH) Britain. 2014. Use of Electronic Cigarette in Great Britain. London: ASH

Adawiah D.S., Muawanah A. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *J. Kim. Val. J. Penelit. dan Pengemb. Ilmi Kim*, 1(2), 130-136.

Amelia R., Nasrul E., dan Basyar M. 2016. Hubungan derajat merokok berdasarkan indeks brinkman dengan kadar hemoglobin. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(3).

Babitt J.L., and H.Y. Lin. 2012. Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 23(10): p. 1631-4.

Baker J., Holander C. 1980. The Laboratory Rat. Vol II. Research applications. Academic Press Inc. London.

Chandra M.I., Amilah, S. 2017. Pengaruh Lama Penyimpanan Ifused Water Lemon (Citrus limon) dan Mentimun (Cucumissativus L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Stigma: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 10(2).

Cooper C.D., Alley F.C. 2011. Air Pollution Control: A Design Approach. Fourth Edition. Long Grove, IL: Wavelan Press, Inc.

Damping H.H. 2012. Pengaruh Penatalaksanaan Terapi Latihan Terhadap Kepuasan Pasien Fraktur di Irina A Blu RSUP Prof. DR. RD Kandou Manado. *Jurnal Ilmiah Perawat Manado (Juiperdo)*, 1(1), 23-29

Das K.K., Das S.N., and Gupta S. D. 2001. Influence of ascorbic acid against nickel-induced hepatic lipid peroxidation in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 12(3), 187-196.

Das, K. K., Das, S. N., & Dhundasi, S. A. 2008. Nickel, its adverse health effects & oxidative stress. *Indian journal of medical research*, 128(4), 412.

De Oliveira, de Carvalho Rondó, & de Moraes Barros. 2004. Concentrations of ascorbic acid in the plasma of pregnant smokers and nonsmokers and their newborns. *International journal for vitamin and nutrition research*, 74(3), 193-198.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Pedoman Pengendalian Tikus. Jakarta : Depkes RI

Dey C., Nidhi S.R.R.S. 2016. Basketful benefit of Citrus limon. *International Research Journal of Pharmacy*. 2016. 7.6: 1-3.





Dewanti I.R. 2018. Identification of CO Exposure, Habits, COHb Blood and Worker's Health Complaints on Basement Waterplace Apartment. Surabaya. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 10.1: 59-69.

Duarte T.L., Lunec J. 2005. When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free radical research*, 39(7), 671-686.

Ekambaram G., Kumar S.K.S., and Joseph L.D. 2017. Comparative study on the estimation of estrous cycle in mice by visual and vaginal lavage method. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(1), AC05.

Elista R., Susanti A.I., dan Astuti S. 2016. Gambaran Paparan Asap Rokok pada Ibu Hamil Berdasarkan Usia Kehamilan di Desa Cintamulya Kecamatan Jatinangor Kabupaten Sumedang. *Jurnal Sistem Kesehatan*. 2.1

Falahudin D. 2010. Bio Assay Antioksidasi Ekstrak Daging Buah Salak Bongkok (*Salacca edulis* Reinw) dengan Khamir *Candida* sp. Y390. *Widyariset* 13.3 : 93-99.

Federer W.T., Bastord K.E. 1991. Competing effects designs and models for two-dimensional field arrangements. *Biometrics*, 47, 1461-1472.

Fibach E, Rachmilewitz E. 2008. The Role of Oxidative Stress In Hemolytic Anemia. *Curr Mol Med*. 8(7):609– 619.

Fidrianny., Irda., Supardja I.G.N.A., dan Soemardji A.A. 2004. Analisis nikoti dalam beberapa organ mencit jantan yang telah menghirup asap rokok. *Publikasi Hasil Penelitian. Departemen Farmasi ITB. Jakarta: Majalah Farmasi Indonesia*.

Hall J.E. 2016. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, Jordanian Edition E-Book*. Elsevier.

Hakim, L., Brahmanti, H., dan Widiatmoko, A. 2012. Megadosis Vitamin C Intraperitoneal Meningkatkan Radikal Bebas dan Menurunkan Sod Serum dan Jaringan Kulit Marmot.

Halliwell B. 1978. Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron salts. *FEBS Lett*. 96:238-42.

Harifah I., Mustofa A., dan Suhartatik N. 2017. Aktivitas antioksidan infused water dengan variasi jenis jeruk (nipis, lemon dan baby) dan buah tambahan (stroberi, anggur hitam, dan kiwi).

IAKMI. 2014. Buku Bunga Rampai-Fakta Tembakau dan Permasalahannya Edisi V. Jakarta. Tobacco Control and Support Center-IAKMI

Ifada R., Hermayanti D., dan NurHasan, Y.T. 2018. Pengaruh Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata laurentii*) Terhadap Kadar Hemoglobin Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*) Yang Diinduksi



Timbal Per-Oral. *Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*, 12(2), 68-74.

Isager, H., & Hagerup, L. 1971. Relationship between cigarette smoking and high packed cell volume and haemoglobin levels. *Scandinavian journal of haematology*, 8(4), 241-244.

Jasmin, G., & Solymoss, B. 1975. Polycythemia induced in rats by intrarenal injection of nickel sulfide Ni₃S₂. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 148(3), 774-776.

Khaira K. 2016. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-oksidan. *Sainstek: Jurnal Sains dan Teknologi*. 2.2: 183-187.

Khairun N.B., Desty M. 2018. Efektivitas Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizopora apiculata*) sebagai Antioksidan. *Jurnal Agromedicine*, 5(1), 412-417.

Kim J.C., Yun, H.I., Lim, K.H., Suh, J.E., and Chung, M. K. 2000. Haematological values during normal pregnancy in Sprague-Dawley rats. *Comparative Haematology International*, 10(2), 74-79.

Krisnawan A.H., Budiono R., Sari D.R., dan Salim W. 2018. Potens Antioksidan Ekstrak Kulit dan Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus Lemon*) Lokal dan Impor. *Prosiding Semastan*, 30-34.

Kusbandari A., Susanti H. 2017. Kandungan Beta Karoten Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap Dpph (1, 1-Difenil 2-Pikrilhidrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis Melo* Var. *Cantalupensis* L) Secara Spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 14(1), 37-42.

Laloan R.J., Marunduh S.R., dan Sapulete I.M. 2018. Hubungan Merokok dengan Nilai Indeks Eritrosit (MCV, MCH, MCHC) pada Mahasiswa Perokok. *Jurnal Medik dan Rehabilitasi*, 1(2).

Leifert J.A. 2008. Anaemia and cigarette smoking. *International journal of laboratory hematology*, 30(3), 177-184.

Lestari S.D., Putra I.A.E., dan Karmaya I.N.M. 2015. Paparan Asap Rokok pada Ibu Hamil di Rumah Tangga teradap Risiko Peningkatan Kejadian Bayi Berat Lahir Rendah di Kabupaten Gianyar [Household Smoke Exposure as Risk Factor of Low Birth Weight among Infants in Gianyar]. *Public Heath Preventive and Medicine Achieve*, 3.1: 13-19.

Leveno K.J., Cunningham F.G., Gant N.F., Alexander J.M., Bloom, S.L., and Casey B.M. 2009. *Obstetri williams: Panduan ringkas*. Jakarta: EGC.

Lovita A.N., Rahayu I.D., dan Prijadi, B. 2016. Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Kadar Hemoglobin Maternal Tikus *Rattus norvegicus* Bunting yang Dipapar Asap Rokok Subakut. *Majalah Kesehatan FKUB*, 1(1), 60-68.

- Maidartati M., Parsaulian P. 2015. Gambaran Pengetahuan Ibu Hamil Trimester 1 Tentang Pengaruh Rokok Terhadap Tumbuh Kembang Janin di Poli Kandungan RSUD Kota Bandung. *Jurnal Keperawatan BSI*, 3.1.
- Malole M.B.M., Pramono C.S.U. 1999. Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Manners H.I., Buker R.S., Smith V.E., Ward D., and Elevitch C.R. 2006. Citrus (*citrus*) and Fortunela (*kumquat*). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry Ver 2.1. Traditional Tree Initiative
- Manuaba I.B.G. 1998. Ilmu Kebidanan, Penyakit Kandungan dan KB. EGC. Jakarta.
- Manuaba I. B. G. 2001. Kapita Selektta Penatalaksanaan Rutin Obstetric Genekologi dan KB. EGC. Jakarta. (51-52)
- Mohanapriya M., Ramaswamy L., and Rajendran R. 2013. Health and medicinal properties of lemon (*Citrus limonum*). *International Journal Of Ayurvedic And Herbal Medicine*, 3(1), 1095-1100.
- Nugroho S.W., Fauziyah K.R., Sajuthi D., and Darusman H.S. 2018. Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar dan Sprague-Dawley. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 6(2), 32-37.
- Okuni W.M., Kurata K., and Yakushijin K. 2019. The First Case of E-Cigarette-Induced Polycythemia. *Case Reports in Hematology*
- Olver C.S., Andrews G.A., Smith J.E., and Kaneko J.E. 2010. Erythrocyte Structure and Function. Didalam Weiss, D. J. K. J Wardrop editor: Schalm's Veterinary Hematology Sixth Edition. Blackwell Publishing Ltd. USA
- P2PTM Kemenkes RI. 2018. Apa saja Bahaya Rokok Elektrik ?. (<http://www.p2ptm.kemkes.go.id/infographic/apa-saja-bahaya-rokok-elektrik>, diakses 26 Agustus 2019)
- Partodiharjo S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. PT. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Pehlivan F.E. 2017. Vitamin C: An antioxidant agent. *Vitamin C*, 23-35.
- Permata A.N., Kurniawati A., dan Lukiati, B. 2018. Screening Fitokimia, Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Pada Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 3(1):64-76
- Prawirohardjo S. 2007. Ilmu Kebidanan Edisi Ketiga. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Prawirohardjo S. 2008. Ilmu kebidanan. Jakarta: Yayasan bina pustaka sarwono prawirohardjo.



- Rekha C., Poornima G., Manasa M., Abhipsa V., Devi J. P., Kumar H.T.V., and Kekuda T.R.P. 2012. Ascorbic acid, total phenol content and antioxidant activity of fresh juices of four ripe and unripe citrus fruits. *Chemical Science Transactions*, 1(2), 303-310.
- Riskesdas. 2018. Hasil Utma Riskesdas 2018 Kementerian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Rizqiyah B., Muthmainnah M., Syarifah, U., and Mulyono A. 2014. Analisis Fsis Membran Biofilter Asap Rokok Berbahan Biji Kurma untuk Menangkap Radikal Bebas. *Jurnal Neutrino: Jurnal Fisika dan Aplikasinya*, 7(1), 40-48.
- Sachdeva M., Karan M., Singh T., and Dhingra S. 2014. Oxidants and antioxidants in complementary and alternative medicine: A review. *Spatula DD*, 4(1), 1-16.
- Safitri, R. N., & Syahrul, F. 2015. Risiko paparan asap rokok terhadap kejadian anemia pada ibu hamil. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 3(3), 327-339.
- Saminem. 2008. Seri Asuhan Kebidanan Kehamilan Normal. Jakarta : EGC
- Sastroasmoro S., ismael S. 2010. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis, edisi ketiga in: Pemilihan Subjek Penelitian dan Desain Penelitian. Jakarta: Sagung seto
- Scanlon K.S., Yip R., Schieve L.A., and Cogswell, M.E. 2000. High and low hemoglobin levels during pregnancy: differential risks for preterm birth and small for gestational age. *Obstetrics & Gynecology*, 96(5), 741-748.
- Segawa K. and Nagata S. 2015. An apoptotic 'eat me' signal: phosphatidylserine exposure. *Trends in cell biology* 25. 11. 639-650.
- Setyaningsih E., Saraswati R.A. 2018. Pengaruh Asap Rokok Berfilter terhadap Kadar Protein Plasma Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* L.) Jantan Strain Wistar. In *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning* (Vol. 15, No. 1, pp. 683-688).
- Sidauruk I. 2018. Vitamin c Stability and Antioxidant Cctivity in Infused Water of Lemon Using Glass and Plastic Packaging.
- Smith J.B., Mangkoewidjojo S. 1998. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Stohs S.J., Bagchi D. 1995. Oxidative mechanism in the toxicity of metal ions. *Free Radic Biol Med*, 18: 321-336.



Surati S., Qomariah N. 2017. Tingkat Keamanan Minuman Infused Water dengan Diversifikasi Penyimpanan yang Berbeda. *Jurnal Riset Kesehatan*, 6(1), 13-19.

Takahashi, M., Shigeno, N., Narita, M., Takahashi, H., Furukawa, T., Koike, T., & Aizawa, Y. 1999. Cotinine (a metabolite of nicotine) suppresses the growth of hematopoietic progenitor cells at the concentration range equivalent to its serum levels in smokers. *Stem cells*, 17(2), 125.

Tambayong, J. 2000. Patofisiologi Untuk Keperawatan. Jakarta: EGC

Tanuwihardja R.K., Susanto A.D. 2012. Rokok elektronik (Electronic cigarette). *Jurnal Respirasi Indonesia*. 32.1: 53-61.

Taqi Khan M, Martell AE. 1968. The kinetics of the reaction of iron(III) chelates of aminopolycarboxylic acids with ascorbic acid. *J Am them Sot*. 90 ; 3386-9.

Tjokroprawiro A. Ed. 2015. *Buku ajar ilmu penyakit dalam. Ed. 2: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Rumah Sakit Pendidikan Dr. Soetomo Surabaya*. Airlangga University Press.

Tobacco Control Support Centre-IAKMI, Kementerian Kesehatan. 2015. *Bunga Rampai Fakta Tembakau dan Permasalahannya di Indonesia Tahun 2014*. Jakarta: Tobacco Control Support Centre-IAKMI

Trisnawati I., Hersoelistyorini W., dan Nurhidajah. 2018. Tingkat Kekeruhan, Kadar Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan Infused Water Lemon dengan Variasi Suhu dan Lama Perendaman. PhD. Thesis. Universitas Muhammadiyah Semarang.

U.S. Department of Health and Human Services. 2016. E-Cigarette Use Among Youth and Young Adults: A Report of the Surgeon General Executive Summary. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health

Urasko Y., He X.J., Ebata T., Kinoshita Y., Kobayashi J., Mochizuki M. and Ikeya M. 2010. Changes in blood parameters and coagulation-related gene expression in pregnant rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2009. 48.3: 272-278. WHO. *WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants*.

Vukomanovic P., Jokanovic M., and Radosavljevic Z. 2011. The effects of tobacco smoke generated from cigarettes exposed to pulsed electromagnetic field in the rat. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(6), 726-730.

Waggiallah H, Alzohairy M. 2011. The Effect of Oxidative Stress Ion Human Red Cells Glutathione Peroxidase, Glutathione Reductase Level and Prevalence of Anemia Among Diabetics. *N Am J Med*. 3(7):3447.





WHO. 2010. *WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants*.

WHO. *Global Youth Tobacco Survey (GYTS) Indonesia Report*. 2014. Jakarta: WHO

Widiastuti H. 2015. Standarisasi vitamin c pada buah bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) secara spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1).

Widowati W. 2011. Uji fitokimia dan potensi antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). *Maranatha Journal of Medicine and Health*, 11(1).

Wijaya H., Junaidi L. 2011. Antioxidants: Mechanism of Action and Its Function in Human Body. *Warta Industri Hasil Pertanian*, 28(02), 44-55.

World Health Organization. 2009. *WHO Framework Convention on Tobacco Control: Guidelines for Implementation Article 5.3; Article 8; Article 11; Article 13*. Geneva: 6World Health Organization

World Health Organization. 2012. *Global adult tobacco survey: Indonesia report 2011*.

Yoshihito L. 2012. Anemia caused by oxidative stress. *Anemia*. IntechOpen. *nemia*. IntechOpen.

Lampiran 1. Keterangan Kelayakan Etik



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. 271 / EC / KEPK – S1 – KB / 10 / 2019

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

- JUDUL** : Pengaruh *Infused Water Lemon (Citrus limon)* terhadap Kadar Hemoglobin (Hb), *Malondialdehyde (MDA)*, Berat Plasenta, dan Berat Badan Bayi Baru Lahir (BBL) Tikus (*Rattus norvegicus*) Bunting yang Dipapar Uap Rokok Elektrik.
- PENELITI** : Ani Khoirinda
Mamluatul Hikmah
Naurah Adibah
R.A. Rahmawati Nurul Fadilah
- UNIT / LEMBAGA** : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang,
Ketua,



Prof. Dr. dr. Moch. Istiaq ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
NIPK. 20180246051611001

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. Surat Keterangan Identitas Taksonomi Lemon



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS MIPA
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia, Telp-fax : +62-341-575841
<http://biologi.ub.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0245/UN10.F09.42/03/2019

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

- Nama : Mamluatul Hikmah (NIM 155070607111018)
- Naurah Adibah (NIM 165070600111004)
- R.A. Rahmawati N.F. (NIM 165070601111004)
- Ani Khoirinda (NIM 165070607111009)

Instansi : Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

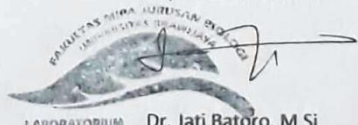
Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Flora of Java (Backer dan Van den Brink, 1968), volume II, halaman 109, diidentifikasi sebagai:

- Familia : Rutaceae
- Genus : Citrus
- Species : Citrus limon (L.) Burm.f.
- Nama lokal : Lemon

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 7 Agustus 2019

Kepala Laboratorium



LABORATORIUM TAKSONOMI
Dr. Jati Batoro, M.Si
NIP. 195704251986011001

Lampiran 3. Surat Keterangan Sehat Tikus



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
RUMAH SAKIT HEWAN PENDIDIKAN
 Kampus 2 UB, Perum Puncak Dieng Eksklusif Dau, Malang.
 e-mail : rshp.brawijaya@ub.ac.id HP: 081230232044

SURAT KETERANGAN SEHAT

Kami yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan bahwa :

- Nama Hewan : Tikus Penelitian
- Jenis Hewan : Tikus (*Rattus novergicus*)
- Jumlah : 40 Ekor (30 ekor Betina, 10 ekor Jantan)
- Umur : 8 sampai 10 Minggu

- Pemilik : Ani Khoirinda, Mamluatul Hikmah, Naurah Adibah, R.A. Rahmawati N.F.
- Institusi : Jurusan Sarjana Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

dengan hasil sebagai berikut :

Hewan tersebut dalam kondisi **SEHAT** sebagai persyaratan untuk Penelitian dengan Judul "Pengaruh *Infused Water Lemon (Citrus limon)* Terhadap Kadar Hemoglobin (Hb), *Malondialdehyde (MDA)*, Berat Plasenta, dan Berat Badan Bayi Baru Lahir (BBL) Tikus (*Rattus novergicus*) Bunting yang Dipapar Uap Rokok Elektrik".

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 22 Oktober 2019

Dokter Pemeriksa

 Dr. Mar Risky Karaman





Lampiran 4. Data Penelitian

Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin pada Induk Tikus

Kelompok Perlakuan	Kadar Hemoglobin(n=5) (g/dL)					Rata-Rata
K-	12.20	11.30	11.00	11.20	12.80	11.70
K+	12.40	14.10	15.00	13.00	14.20	13.74
P1	11.50	11.50	11.00	13.00	13.80	12.16
P2	11.40	13.80	13.00	10.40	12.70	12.26
P3	10.00	11.20	12.60	13.00	10.80	11.52

Uji Deskriptif Data

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
KN	5	11.7000	.76811	.34351	10.7463	12.6537	11.00	12.80
K P	5	13.7400	1.03344	.46217	12.4568	15.0232	12.40	15.00
P1	5	12.1600	1.18448	.52972	10.6893	13.6307	11.00	13.80
P2	5	12.2600	1.35204	.60465	10.5812	13.9388	10.40	13.80
P3	5	11.5200	1.25379	.56071	9.9632	13.0768	10.00	13.00

Uji Normalitas

	Statistic	df	Sig.
Hb	.964	25	.502

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hb	.766	4	20	.560



Uji One-Way ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15,302	4	3,825	2,960	0,45

Uji LSD

P-value	KN	KP	P1	P2	P3
KN		0,010*	0,530	0,445	0,805
KP			0,040*	0,053	0,006*
P1				0,891	0,384
P2					0,316

*p-value < 0,05 adalah bermakna



Lampiran 5. Dokumen Kegiatan



Gambar 1. Aklimatisasi



Gambar 2. Pemberian Makan dan Minum



Gambar 3. Penggantian Sekam



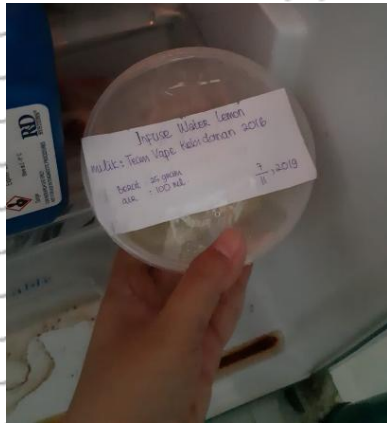
Gambar 4. Swab Vagina



Gambar 5. Melihat Fase Tikus



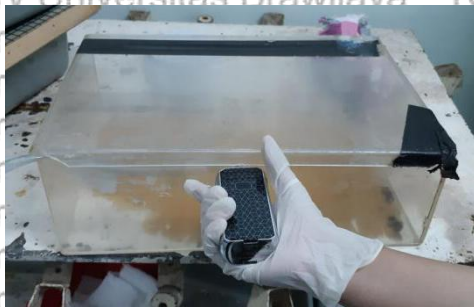
Gambar 6. Penimbangan BB Tikus



Gambar 7. Pembuatan *Infused Water Lemon*



Gambar 8. Penyondaan *Infused Water Lemon*



Gambar 9. Alat Pemaparan Rokok Elektrik



Gambar 10. Proses Pemaparan



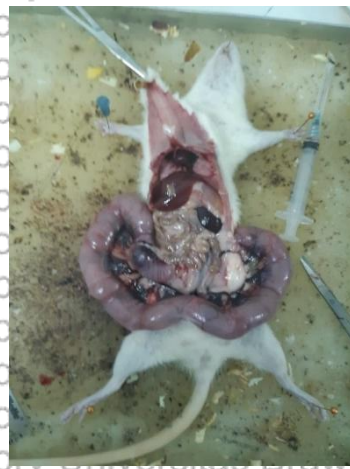
Gambar 11. Kondisi Sesudah dipapar



Gambar 12. Injeksi Ketamin



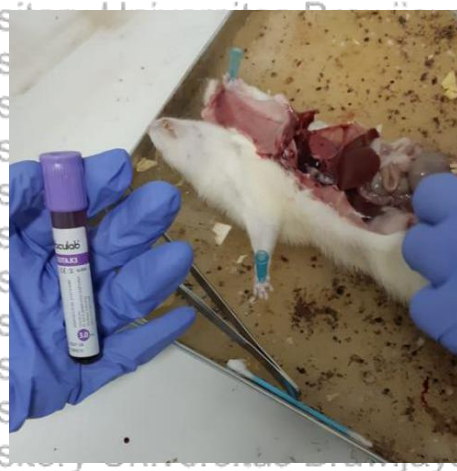
Gambar 13. Kondisi Setelah Injeksi Ketamin



Gambar 14. Pembedahan Tikus



Gambar 15. Pengambilan Darah



Gambar 16. Penyimpanan Darah ditabung EDTA

**Lampiran 6. Curriculum Vitae (CV) Peneliti****CURRICULUM VITAE**

Nama : Ani Khoirinda

NIM : 165070607111009

Jurusan/Tanggal Lahir : Kebidanan/2016

Jenis Kelamin : Perempuan

Alamat Asal : Perum Puri kosambi 1 Blok N11A, RT. 054 RW. 015,
Desa Duren, Kecamatan Klari, Karawang

Alamat di Malang : Jl. Kertoleksono 2A

Kewarganegaraan : Indonesia

Status : Mahasiswa

No. HP : 08999357910

Email : anikhoirinda@gmail.com

Riwayat Pendidikan

1. TK AL-Husnaeni (Tahun 2003-2004)
2. SDN Telagasari (Tahun 2004-2010)
3. SMPN 1 Klari (Tahun 2010-2013)
4. SMAN 1 Klari (Tahun 2013-2016)
5. Program Studi S1 Kebidanan
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (Tahun 2016-sekarang)

Pengalaman Organisasi

1. Staff Humas Armabi (Tahun 2017-2018)
2. Staff PRD LSIM (Tahun 2017-2018)



Pengalaman Seminar

1. Peserta dalam kegiatan Pengenalan Kehidupan Kampus Mahasiswa Baru (PKKMB) tahun 2016
2. Peserta dalam kegiatan Bina Karakter Mahasiswa (BKM) 2016
3. LKMM 1 Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Tahun 2016
4. Peserta seminar Medical Fiesta 2016
5. Peserta seminar SERVIX 2016
6. Peserta seminar SERVIX 2017
7. Peserta seminar SOMATIC 2018
8. Peserta seminar HYPOTHALAMUS 2018
9. Peserta seminar EXIT MRC 2018
10. Peserta seminar GSM-EXI 2018
11. Peserta seminar AESCULAPIUS 2019
12. Peserta seminar MAJESTY 2019
13. Peserta seminar SERVIX 2019

Pengalaman Perlombaan

1. Juara 3 tenis meja tunggal putri Olimpiade Brawijaya 2017
2. Juara 2 poster publik SOMATIC 2018
3. Finalis poster publik MEDJONSON 2018
4. Juara 2 poster publik EXIT MRC 2018
5. Juara 1 poster publik HYPOTHALAMUS 2018
6. Juara 3 poster publik IMSCOB1 2018
7. Finalis poster publik SRF 2018
8. Juara Harapan 1 poster publik GSM-EXI 2018
9. Finalis poster publik AESCULAPIUS 2019
10. Finalis poster publik SERVIX 2019
11. Finalis poster publik MAJESTINAS 2019

Pengalaman Kegiatan

1. Staff PDDM Lokakarya 2016
2. Kordi PDDM Lokakarya 2017



3. Staff Danus SERVIX 2017
4. Staff Perkap DT 2017
5. Kordi Perkap SERVIX 2018
6. Wakil Koordinator PDDM Bakti Sosial Kebidanan 2018
7. Volunteer Bakti Sosial Kebidanan 2018
8. Pemateri SOC 2019
9. Juri Sekolah Ilmiah 2019
10. Pemateri Sekolah Ilmiah 2019