BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini telah dilakukan selama ± 3 bulan dengan menggunakan tikus (*Rattus norvegicus)* betina. Hipotesis penelitian ini adalah ada pengaruh pemberian vitamin E pada tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok subakut terhadap berat badan bayi lahir aterm. *Rattus norvegicus* betina dipilih karena memiliki masa kebuntingan yang relatif cepat (± 20-24 hari). Selama masa kebuntingan tikus mendapatkan perlakuan berupa pemberian vitamin E selama 19 hari dan pemaparan asap rokok subakut selama 14 hari. Pemilihan jenis paparan subakut ini disesuikan dengan masa kebuntingan tikus yang singkat, yaitu 20-24 hari. Pemaparan asap rokok dimulai pada hari ke-6 kebuntingan tikus karena disesuaikan dengan fase pertumbuhan fetus. Implantasi embrio pada endometrium terjadi pada hari ke-5 kemudian pertumbuhan panjang dan besar terjadi pada hari ke-6 kebuntingan (Adnan , 2007).

Hasil penelitian ini menunjukkan berat badan rata-rata bayi tikus dari kelompok kontrol negatif (P0) sebesar 3,2 gram, kelompok kontrol positif (P1) 1, 95 gram, P2 (dipapar asap rokok dan diberi vitamin E 100 mg/kgbb/hari) 4 gram, P3 (dipapar asap rokok dan diberi vitamin E 200 mg/kgbb/hari) 3 gram, dan P4 (dipapar asap rokok dan diberi vitamin E 400 mg/kgbb/hari) sebesar 2,37 gram. Menurut Oktavianis (2011) berat badan lahir aterm pada tikus adalah 5-6 gram. Berat badan rata-rata bayi tikus aterm kelompok kontrol negatif pada penelitian ini adalah sebesar 3,2 gram yang berarti kurang dari berat badan bayi tikus aterm berdasar referensi.

Ada banyak faktor yang mempengaruhi berat lahir bayi tikus, Menurut Hafez dan Dyer dalam skripsi Adnan (2007), bobot lahir tikus dipengaruhi oleh pertumbuhan fetus sebelum lahir atau pertumbuhan selama kebuntingan. Variasi bobot lahir dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu genotif (36%), lingkungan fetal (30%), lingkungan induk (18%), kesamaan induk (7%), nutrisi induk (6%), dan umur induk (1%).

Pada penelitian ini juga dilakukan analisa data pengaruh pemberian vitamin E pada tikus yang terpapar asap rokok subakut terhadap jumlah bayi. Hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada korelasi antara jumlah bayi dengan berat badan rata-rata bayi tikus. Berdasarkan hasil analisa uji *Kruskall Wallis* didapatkan $p=0.229$ ($p<0.05$) yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikann pada jumlah bayi antara kelompok perlakuan. Pada uji korelasi didapatkan $p= 0.645$ ($p<0.05$) yang berarti bahwa tidak terdapat korelasi antara jumlah bayi dengan berat badan rata-rata bayi tikus lahir aterm. Hasil ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh hafez (1970) yang menyatakan bahwa semakin banyak jumlah anak menyebabkan semakin rendah berat badan lahir rata-ratanya. Pada Penelitian ini jumlah bayi tidak memiliki pengaruh terhadap berat bdn lahir rata-rata disebabkan karena banyak faktor lain yang mempengaruhi variasi berat badan lahir dan dengan pemberian vitamin E yang mempengaruhi berat badan lahir rata-rata sehingga tidak terlihat korelasi yang nyata antara jumlah bayi tikus dengan berat badan rata-rata bayi tikus lahir aterm.

Masa aterm pada kehamilan dapat bervariasi antara satu induk dengan induk lainnya dengan rentang waktu 20-24 hari. Tikus jarang menunjukkan kebuntingan semu. Seperti pada mencit, kita dapat mengetahui kebuntingan tikus setelah ditemukan sumbat vagina atau dengan cara melakukan usapan

vagina untuk melihat adanya spermatozoa (Smith dan Mangkoewidjojo 1987). Pada penelitian ini hari pertama kebuntingan ditentukan dengan cara melihat sumbat vagina. Pada hari ke-20 kebuntingan bayi tkus dilahirkan dengan cara pembedahan. Hal tersebut kemungkinan menyebabkan berat badan lahir bayinya kurang dari 5 gram, karena bayi tidak dilahirkan secara spontan oleh induk. Meskipun hari ke-20 sudah masuk dalam rentang masa kebuntingan aterm, namun kelahiran aterm antara satu induk dengan induk lainnya bisa bervariasi.

Faktor nutrisi juga berpengaruh dalam perkembangan janin. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo dalam skrisi Adnan (2007) kebutuhan pakan bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika pakan tersebut berupa pakan kering dan dapat ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Pada penelitian ini pakan yang diberikan berdasarkan standar pakan hewan coba laboratorium sebesar 50 garm/tikus/hari jadi pemberian pakan ini sebenarnya sudah sesuai dengan kebutuhan tikus pada masa reproduksi dan sudah lebih dari 10% berat badan tikus yang sekitar 200-250 gram. Akan tetapi pakan diberikan secara bersamaan untuk 4 tikus dalam satu kandang. Hal ini menyebabkan tidak terjaminnya secara pasti bahwa setiap tikus mendapatkan pakan sebesar 50 gram/tikus/hari. Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988), kualitas pakan merupakan faktor penting yang mempengaruhi kemampuan tikus mencapai potensi genetik untuk tumbuh. Kebutuhan protein tikus adalah 12% (lengkap berisi 20 asam amino), lemak 5% dan serat kasar ±5%, makanan tikus juga harus mengandung vitamin A, vitamin D, asam linoleat, tiamin, riboflavin, pantotenat, vitamin B12, biotin, piridoksin dan kolin, serta mineral-mineral tertentu. Dalam penelitian ini pakan tikus yang digunakan memiliki kandungan

air 12%, protein kasar 12-14%, lemak kasar 4%, serat kasar 6%, abu 7,5%, kalsium 1,2% dan fosfor 0,8%. Kurangnya beberapa komponen vitamin dalam pakan dan juga pemberian pakan secara bersamaan dalam satu kandang mungkin mempengaruhi pertumbuhan janin pada masa kebuntingan sehingga memyebabkan berat badan lahir bayi juga kurang dari 5 gram. Selain itu faktor genotif (36%), lingkungan fetal (30%),dan kesamaan induk (7%) adalah faktor-faktor yang tidak bisa dikontrol pada penlitian ini. Sedngkan faktor lingkungan induk, seperti kandang dan suhu lingkungan adalah faktor yang telah dikontrol pada penelitian ini agar tidak mempengaruhi variasi berat badan lahir bayi tikus.

6.1 Pengaruh Paparan Asap Rokok Subakut Terhadap Berat Badan Rata-Rata Bayi Tikus

Berdasarkan analisa statistik dengan uji *post hoc HSD Tukey* 5% terdapat perbedaan yang signifikan p=0,044 (p< 0.05) antara kelompok P0 (kontrol negatif) dengan berat rata-rata sebesar 3,2 gram dibandingkan dengan P1 (kontrol positif) dengan berat rata-rata sebesar 1,95 gram . Penurunan berat badan disebabkan karena paparan asap rokok akan meningkatkan jumlah radikal bebas.Tubuh sebenarnya memiliki antioksidan endogen untuk melawan radikal bebas tapi apabila kadar radikal bebas terus meningkat maka antioksidan endogen tidak mampu mengimbangi peningkatan tersebut, sehingga terjadi stres oksidatif. Pada kondisi stres oksidatif akan terjadi peroksidasi lemak yang pada akhirnya akan merusak sel, selain itu hasil samping berupa MDA juga bersifat sitotoksik bagi sel endotel. Paparan asap rokok juga mengakibatkan sel endotel mengalami *disjunction* dengan jaringan dibawahnya sehingga akan terlepas ke dalam sirkulasi (Santosa, 2013).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan ada percepatan degradasi NO akibat peningkatan ROS sehingga terjadi disfungsi endotel (ketidakseimbangan produksi vasokontriktor dan vasodilator) karena bioavailabilitas NO menurun. Radikal superoksida maupun *Ox-LDL cholesterol* bertanggungjawab atas peningkatan degradasi NO, bahkan radikal superoksida dapat secara langsung menginaktifkan NO melalui proses reaksi cepat membentuk peroksinitrit yang merupakan komponen yang sangat kuat dan memiliki daya hancur lebih kuat daripada superoksida (Santosa, 2013). Kondisi disfungsi endotel yang terjadi secara terus menerus dapat menimbulkan apoptosis, yang kemudian menyebabkan denudasi endotel dan mempengaruhi jumlah sel endotel plasenta yang intak (Squadrito *et al*., 2000). Terjadinya kerusakan sel endotel pada plasenta dapat menyebabkan insufisiensi plasenta yaitu terjadi hambatan terhadap distribusi oksigen dan nutrisi sehingga janin tidak mendapatkan oksignasi dan nutrisi yang adekuat. Penelitian Santoso dkk (2013) menunjukkan adanya kerusakan plasenta yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah sel endotel plasenta yang signifikan antara plasenta tikus kelompok kontrol dengan plasenta tikus yang dipapar asap rokok subakut.

6.2 Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Berat Badan Rata-Rata Bayi Tikus yang dipapar Asap Rokok Subakut

Penelitian ini menggunakan tiga dosis vitamin E berbeda yakni 100, 200, dan 400 mg/kgbb/hari. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, pemberian vitamin E dengan dosis 100 mg/kgbb/hari selama satu bulan terbukti mampu menurunkan jumlah leukosit dan neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok (Yuniharilmy, 2011) . Pemberian vitamin E dengan dosis 120 IU juga mampu

menurunkan kadar MDA darah tikus yang diberi pakan tinggi lemak (Yuliani, 2002) sehingga mampu mencegah terjadinya kerusakan sel.

Seperti yang telah dijelaskan dalam pembahasan sebelumnya bahwa adanya kelemahan-kelemahan dalam penelitian menyebabkan berat badan lahir kurang dari 5 gram. Pada penelitian ini berat badan kelompok kontrol negatif (P0) sebesar 3, 2 gram. Namun secara statistik berdasarkan uji *Tukey* 5 % pada P1 (kontrol positif) dan P2 (diberi vitamin E 100 mg/kgbb/hari) didapatkan peningkatan berat badan yang sangat signifikan, dengan p = 0,003 (p > 0,05) . Vitamin E dapat melindungi sel endotel plasenta dari kerusakan karena kemampuannya dalam memutus rantai reaksi radikal bebas dengan cara bereaksi dengan radikal peroksil (Goodman, 2008; Murray *et al*., 2006), sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya insufisiensi plasenta yang dapat menyebabkan penurunan berat badan bayi. Hasil penelitian Handayiningsih (2006) menyatakan dengan pemberian vitamin E dosis 100 mg/kgbb/hari dapat mengurangi kerusakan sel testis akibat paparan asap rokok,akan tetapi dengan lama paparan 2 bulan.

Mekanisme kerja Vtamin E dalam menghambat pembentukan radikal bebas dapat dijelaskan dengan reaksi radikal *α-Tocopherol* (*α-Toc**) dalam *bluk lipids* yang menghasilkan produk non radikal (Richard B, *et al.,* 2001, Vincent *et.,al , 1992*):

*α-Toc** +L(R)OO- → *non-radical products*

Akan tetapi dalam penelitian ini pada pemberian vitamin E dosis 200 mg/kgbb/hari dan dosis 400mg kgbb/hari berat badan bayi tikus justru menurun. Hal ini mungkin disebabkan karena pemberian dosis yang terlalu tinggi yaitu 200 mg/kgbb/hari dan 400 mg/kgbb/hari. Walaupun secara umum vitamin E berfungsi sebagai antioksidan namun dalam kondisi tertentu vitamin E juga dapat menjadi

pro-oksidan (Richard B, *et al.,* 2001). Vitamin E di dalam konsentrasi rendah cairan aqua ROO-, *α-tocopherol* (α-TocH) dapat menjadi pro-oxidant kuat untuk LDL. Radikal bebas *α-tocopherol* (α-Toc*) dapat terbentuk melalui mekanisme reaksi antara α-TocH dengan LOO- atau ROO-, sebagaimana reaksi berikut:

α-TocH +L(R)OO- → α-Toch* + L(R)OOH

dan juga reaksi radikal bebas α tocopherol (α-Toc*) dengan PUFA mengandung lemak (L-H) (Richard B, *et al.,* 2001)

α-Toch* + L-H → α-TocH +L-

Berdasarkan pembahasan di atas maka vitamin E dapat memiliki efek sebagai antioksidan maupun peroksidan. Hasil ini sejalan dengan penelitian Richard B, *et al.,* (2001) dan Vincent (1992) yang menyatakan bahwa *α-tocopherol* dapat menghambat pembentukan radikal bebas dengan bertindak sebagai pemulung LOO- maupun menginisiasi terbentuknya radikal bebas ROO-. Bagaimanapun juga dengan hasil ini hipotesis yang menyatakan bahwa ada pengaruh pemberian vitamin E pada tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok subakut terhadap berat badan bayi lahir aterm.dapat diterima.

6.3 Kelemahan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain:

a. Pemberian pakan pada empat ekor tikus yang diberikan secara bersamaan dalam satu kandang, sehingga tidak terjamin secara pasti bahwa setiap tikus akan mendapatkan pakan sebesar 50gram/tikus hari.
b. Kandungan vitamin sebagai nutrisi yang dibutuhkan dalam pakan kurang sehingga kemungkinan menyebabkan berat badan lahir kurang dari 5 gram pada kelompok kontrol negatif (P0).

c. Faktor-faktor tidak terkontrol yang mempengaruhi berat badan lahir yaitu faktor genotif, faktor lingkungan fetal dan kesamaan induk.

d. Penentuan dosis vitamin E yang belum tepat sehingga pada kelompok P3 (dosis vitamin E 200mg/kgbb/hari) dan P4 (dosis vitamin E 400mg/kgbb/hari) tidak mempengaruhi berat badan rata-rata secara signifikan.

e. Lama terapi vitamin E yang singkat yaitu selama 19 hari sehingga efek pemberian vitamin E belum terlihat secara optimal.