

**PENGARUH KEFIR SUSU SAPI DALAM MENCEGAH PENINGKATAN
KADAR *MALONDIALDEHYDE* (MDA) PLASENTA PADA TIKUS (*Rattus
novergicus*) BUNTING YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

May Putri Arinda

NIM: 145070601111045

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN KEFIR SUSU SAPI TERHADAP PENURUNAN
KADAR *MALONDIALDEHYDE* (MDA) PLASENTA PADA TIKUS (*Rattus
novergicus*) BUNTING YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK**

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan



Oleh:

**May Putri Arinda
NIM 145070601111045**

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing-I,

Pembimbing-II,

Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes
NIP. 195210271981032001

dr. Ni Luh Putu H. M. SpA, M. Biomed
NIK. 2013037502282001



KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala kekuatan dan kemudahan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan tugas akhir yang berjudul “Pengaruh Pemberian Kefir Susu Sapi Dalam Mencegah Peningkatan Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Tikus (*Rattus novergicus*) Bunting yang Dipapar Asap Rokok”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa jumlah perokok semakin meningkat dan memberikan dampak berbahaya bagi orang disekitarnya terutama ibu hamil. Ibu hamil yang terpapar asap rokok akan mengalami ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam plasenta sehingga akan meningkatkan kadar MDA (*Malondialdehyde*) plasenta, yang bersifat merusak struktur dan fungsi plasenta. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian kefir susu sapi sebagai antioksidan akan menurunkan aktivitas radikal bebas dalam plasenta sehingga dapat menurunkan kadar MDA (*Malondialdehyde*) plasenta.

Dengan selesainya tugas akhir ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes selaku pembimbing pertama yang telah memberikan bantuan, yang dengan sabar memberi bimbingan, masukan dan saran untuk bisa menulis dengan baik serta memberi semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, SpA, M.Biomed selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bantuan, yang dengan sabar memberi bimbingan, masukan dan saran untuk bisa menulis dengan baik serta memberi semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

3. dr. Hidayat Sujuti, PhD, Sp.M selaku Ketua Tim Penguji Ujian Tugas Akhir yang telah memberikan bimbingan, masukan dan saran untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
4. Linda Ratna Wati, SST., M.Kes selaku Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis menerima setiap saran dan kritik yang membangun. Semoga tulisan ini dapat memberi manfaat bagi pembaca serta semua pihak yang membutuhkan.

Malang, 27 Februari 2018

Penulis

ABSTRAK

Arinda, May Putri.2018.**Pengaruh Kefir Susu Sapi Dalam Mencegah Peningkatan Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Plasenta Tikus (*Rattus novergicus*) Bunting Yang Dipapar Asap Rokok.**Tugas Akhir, Program Studi S-1 Kebidanan,Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes (2) dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, Sp.A, M.Biomed

Pengaruh ibu selama kehamilan sebagian besar melalui plasenta, organ penting yang melakukan pertukaran nutrisi dan peredaran darah retoplasenter. Lingkungan yang buruk seperti paparan asap rokok sebagai radikal bebas akan meningkatkan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Aktifitas radikal bebas dapat dicegah dan dihambat menggunakan antioksidan dari dalam maupun luar tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa kefir susu sapi dapat mencegah peningkatan kadar MDA (*Malondialdehyde*) plasenta tikus bunting yang dipapar asap rokok. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Sampel dibagi kedalam 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (-) adalah tikus bunting yang tidak dipapar asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi. sedangkan Kelompok kontrol positif (+) adalah tikus bunting yang dipapar asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi. Kelompok perlakuan yaitu tikus bunting yang dipapar asap rokok dengan pemberian kefir susu sapi dengan 3 dosis berbeda (P1=2,5; P2=5; P3=10 ml/kgBB/hari) selama 14 hari. Variabel penelitian adalah kadar MDA plasenta. Hasil penelitian secara signifikan menunjukkan kadar MDA plasenta pada kontrol (+) yaitu 0,90 ng/100mg lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif (-) yaitu 0,24 ng/100mg ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Pada ketiga kelompok perlakuan (P1=0,58; P2=0,45; P3=0,46 ng/100mg) menunjukkan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan dibandingkan kontrol (+) ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Kefir susu sapi terbukti dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus yang dipapar asap rokok.

Kata kunci: MDA, Kefir Susu Sapi, Asap Rokok, Kehamilan

ABSTRACT

Arinda, May Putri.2018. **Effect of Cow Milk Kefir In Preventing Increased Levels of *Malondialdehyde* (MDA) in Rat (*Rattus novergicus*) Placenta Exposed to Cigarette Smoke.**Final Assignment, Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors : (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes (2) dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, Sp.A, M.Biomed

Maternal influences during pregnancy are mostly through the placenta, an important organ that performs the exchange of nutrients and blood circulation. Bad environments such as exposure to secondhand smoke as free radicals will increase ROS (*Reactive Oxygen Species*). Free radical activity can be prevented and inhibited using antioxidants from within and outside the body. This study aims to prove that kefir can prevent elevated levels of MDA (*Malondialdehyde*) placenta bunting mice exposed to cigarette smoke. This research is experimental using Randomized Post Test Only Control Group Design. Samples were divided into 2 control groups and 3 treatment groups. The negative control group (-) is a rat that is not exposed to cigarette smoke without giving kefir. whereas positive control group (+) is rat exposed to cigarette smoke without giving kefir. The treatment group was rat exposed to cigarette smoke by giving kefir with 3 different doses (P1 = 2.5, P2 = 5, P3 = 10 ml / kg BW / day) during 14 days. The research variable was placental MDA level. The results showed significant placental MDA level at control (+) ie 0.90 ng / 100mg higher than negative control (-) ie 0.24 ng / 100mg ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Three treatment groups (P1 = 0.58; P2 = 0.45; P3 = 0.46 ng / 100mg) showed significantly lower placental MDA levels than control (+) ($p = 0.000$) ($p < 0, 05$). Kefir is proven to prevent elevated levels of placental MDA of rat exposed to cigarette smoke.

Keywords: MDA, Kefir, Cigarette Smoke, Pregnancy

DAFTAR ISI

Halaman

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
<i>Abstract</i>	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Lampiran	xii
Daftar Singkatan	xiii

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademik	6
1.4.2 Manfaat Praktis	6

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asap Rokok	7
2.1.1 Asap Rokok sebagai Radikal Bebas	7
2.1.2 Bahaya Asap Rokok pada Ibu Hamil	11
2.2 Peroksidasi Lipid akibat Radikal Bebas	13
2.3 Malondialdehyde (MDA)	15
2.4 Kefir Susu Sapi	16
2.4.1 Proses Pembuatan Kefir Susu Sapi	16
2.4.2 Kandungan Gizi dalam Kefir Susu Sapi	17
2.4.3 Metabolisme Senyawa Protein dari Kefir Susu Sapi	19
2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	19

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep	21
3.2 Hipotesis Penelitian	23



BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	24
4.2 Populasi dan Sampel	25
4.2.1 Kriteria Inklusi	26
4.2.2 Kriteria Eksklusi	26
4.2.3 Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel	27
4.3 Variabel Penelitian	27
4.3.1 Variabel Tergantung.....	27
4.3.2 Variabel Bebas.....	27
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	27
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	28
4.5.1 Alat	28
4.5.1.1 Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba.....	28
4.5.1.2 Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba	28
4.5.1.3 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba	28
4.5.1.4 Alat untuk Pemberian Kefir Susu Sapi.....	28
4.5.1.5 Alat untuk Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba	28
4.5.1.6 Alat untuk Pembedahan dan Pengambilan Plasenta	29
4.5.1.7 Alat untuk Pengukuran MDA	29
4.5.2 Bahan	29
4.5.2.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba	29
4.5.2.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba	29
4.5.2.3 Bahan untuk Pemeriksaan MDA	30
4.6 Definisi Istilah/Operasional.....	30
4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data	31
4.7.1 Penentuan Dosis.....	31
4.7.2 Perlakuan terhadap Tikus	32
4.7.2.1 Prosedur Aklimatisasi	32
4.7.2.2 Penentuan Kelompok Perlakuan	32
4.7.2.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba	32
4.7.2.4 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba	33
4.7.2.5 Prosedur Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba	33
4.7.2.6 Prosedur Pemberian Kefir Susu Sapi	34
4.7.3 Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Plasenta	35
4.7.4 Prosedur Pengukuran Malondialdehyde (MDA)	35
4.8 Analisis Data.....	36
4.9 Skema Alur Penelitian.....	38

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	39
5.2 Analisis Data.....	40

BAB 6. PEMBAHASAN	44
--------------------------------	-----------



BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan..... 52
7.2 Saran..... 52
Daftar Pustaka 53



DAFTAR TABEL

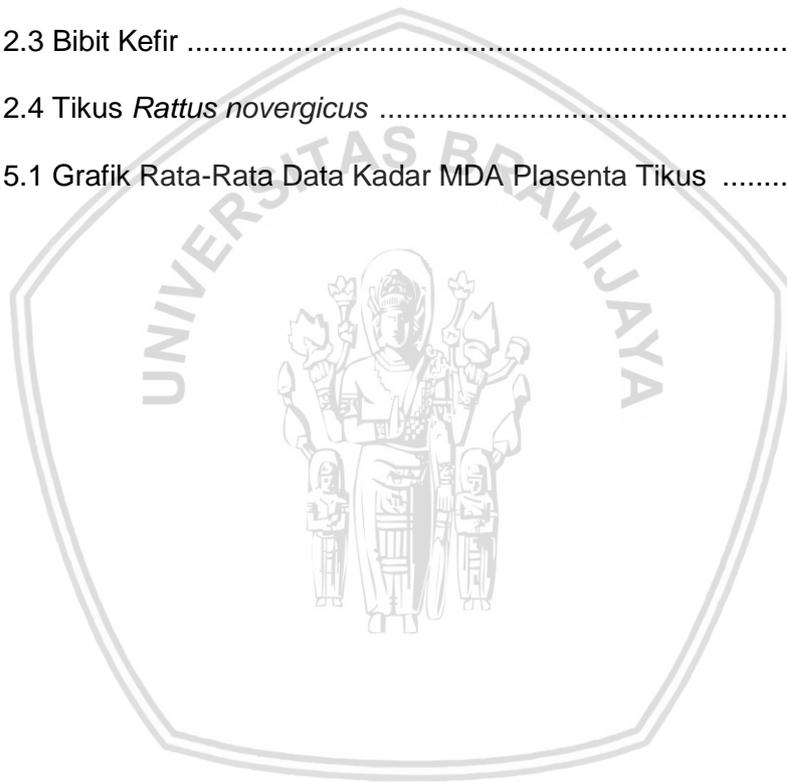
Halaman

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Kefir	18
Tabel 4.1 Tabel Pembagian Kelompok Hewan Coba	25
Tabel 5.1 Tabel Hasil Pengukuran Kadar MDA Plasenta Tikus Setelah Dipapar Asap Rokok dan Diberikan Kefir Susu Sapi	39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Kimia Nikotin	9
Gambar 2.2 Struktur Kimia Timbal	10
Gambar 2.3 Bibit Kefir	17
Gambar 2.4 Tikus <i>Rattus novergicus</i>	20
Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Data Kadar MDA Plasenta Tikus	40



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan.....	58
Lampiran 2. Kandungan Makanan Hewan Coba	59
Lampiran 3. Kadar MDA Plasenta Tikus (<i>Rattus novergicus</i>) Bunting	60
Lampiran 4. Pengawinan Tikus.....	61
Lampiran 5. Pemberian Kefir Susu Sapi dan Pengasapan Rokok.....	62
Lampiran 6. Pembedahan Hewan Coba	63
Lampiran 7. Tahapan Pengukuran Kadar MDA Plasenta.....	64
Lampiran 8. Pengukuran Kadar MDA Plasenta Tikus	65
Lampiran 9. Hasil Uji Normalitas Data, Uji Homogenitas Varian dan Uji Anova .	67
Lampiran 10. Hasil uji Tukey-HSD	68
Lampiran 11. Hasil Uji Korelasi Pearson.....	69
Lampiran 12. Surat Kelaikan Etik.....	70

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
ALT	: Alanin Aminotransferase
ASEAN	: <i>Association of South East Asia Nation</i>
AST	: Aspartate Transaminase
BBLR	: Berat Badan Lahir Rendah
CO	: Karbon Monoksida
COHb	: Karboksihemoglobin
DNA	: <i>Deoxyribose-nucleic Acid</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
GSH-Px	: <i>Glutathione Peroxidase</i>
H	: Atom Hidrogen
HCl	: Asam Klorida
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
Me ⁿ⁺	: Logam Transisi
MMP-2	: Matriks Metalloproteinase-2
MMP-9	: Matriks Metalloproteinase-2
NADP	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
O ₂	: Oksigen
O _{2x} ⁻	: Superoksida
O ⁻	: Singlet Oksigen
OH ⁻	: Radikal Hidroksil
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
R ₁ H	: Metilen Teraktivasi

R	: Radikal Bebas
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
ROO [•]	: Radikal Peroksil Lipid
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
ROOH	: Hidrogen Peroksida
TBA	: <i>Thibarbituric Acid</i>
TCA	: <i>Tri Chloride Acid</i>



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH KEFIR SUSU SAPI DALAM MENCEGAH PENINGKATAN
KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA) PLASENTA PADA TIKUS
(*Rattus novvergicus*) BUNTING YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh:

May Putri Arinda

NIM 145070601111045

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 07 Maret 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

dr. Hidayat Sujuti, PhD, SpM.

NIP. 196701231996011001

Pembimbing-I/Penguji-II

Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes.

NIP. 195210271981032001

Pembimbing-II/Penguji-III

dr. Ni Luh Putu H. M. SpA, M.Biomed

NIK. 2013037502282001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan



Linda Ratna Wati, SST., M.Kes

NIP. 198409132014042001

repository.ub.ac.id

Pengaruh Kefir Susu Sapi Dalam Mencegah Peningkatan Kadar Malondialdehyde (MDA) Plasenta Tikus (*Rattus novergicus*) Bunting Yang Dipapar Asap Rokok

May Putri Arinda¹, Setyawati Soeharto², Ni Luh Putu Herli Mastuti³

S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Email : mayputriarinda@gmail.com

ABSTRACT

Maternal influences during pregnancy are mostly through the placenta, an important organ that performs the exchange of nutrients and blood circulation. Bad environments such as exposure to secondhand smoke as free radicals will increase ROS (Reactive Oxygen Species). Free radical activity can be prevented and inhibited using antioxidants from within and outside the body. This study aims to prove that kefir can prevent elevated levels of MDA (Malondialdehyde) rat placental exposed to cigarette smoke. This research is experimental using Randomized Post Test Only Control Group Design. Samples were divided into 2 control groups and 3 treatment groups. The negative control group (-) is a rat that is not exposed to cigarette smoke without giving kefir. whereas positive control group (+) is rat exposed to cigarette smoke without giving kefir. The treatment group was rat exposed to cigarette smoke by giving kefir with 3 different doses (P1 = 2.5, P2 = 5, P3 = 10 ml / kg BW / day) during 14 days. The research variable was placental MDA level. The results showed significant placental MDA level at control (+) ie 0.90 ng / 100mg higher than negative control (-) ie 0.24 ng / 100mg ($p = 0,000$) ($p < 0.05$). Three treatment groups (P1 = 0.58; P2 = 0.45; P3 = 0.46 ng / 100mg) showed significantly lower placental MDA levels than control (+) ($p = 0.000$) ($p < 0, 05$). Kefir is proven to prevent elevated levels of placental MDA of rat exposed to cigarette smoke.

Keywords: MDA, Kefir, Cigarette Smoke, Pregnancy

ABSTRAK

Pengaruh ibu selama kehamilan sebagian besar melalui plasenta, organ penting yang melakukan pertukaran nutrisi dan peredaran darah retoplasenter. Lingkungan yang buruk seperti paparan asap rokok sebagai radikal bebas akan meningkatkan ROS (Reactive Oxygen Species). Aktifitas radikal bebas dapat dicegah dan dihambat menggunakan antioksidan dari dalam maupun luar tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa kefir susu sapi dapat mencegah peningkatan kadar MDA (Malondialdehyde) plasenta tikus bunting yang dipapar asap rokok. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Sampel dibagi kedalam 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (-) adalah tikus bunting yang tidak dipapar asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi. sedangkan Kelompok kontrol positif (+) adalah tikus bunting yang dipapar asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi. Kelompok perlakuan yaitu tikus bunting yang dipapar asap rokok dengan pemberian kefir susu sapi dengan 3 dosis berbeda (P1=2,5; P2=5; P3=10 ml/kgBB/hari) selama 14 hari. Variabel yang diteliti adalah kadar MDA plasenta. Hasil penelitian secara signifikan menunjukkan kadar MDA plasenta pada kontrol (+) yaitu 0,90 ng/100mg lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif (-) yaitu 0,24 ng/100mg ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Pada ketiga kelompok perlakuan (P1=0,58; P2=0,45; P3=0,46 ng/100mg) menunjukkan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan dibandingkan kontrol (+) ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Kefir susu sapi terbukti dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus yang dipapar asap rokok.

Kata kunci: MDA, Kefir Susu Sapi, Asap Rokok, Kehamilan

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Pengaruh ibu terhadap pertumbuhan janin sebagian besar melalui plasenta, organ penting yang dapat melakukan pertukaran nutrisi melalui peredaran darah retroplasenter. Lingkungan ibu yang buruk akan memberikan pengaruh terhadap perkembangan plasenta dan berdampak serius terhadap pertumbuhan janin (Manuaba *et al.*, 2014). Lingkungan yang buruk salah satunya dapat berupa paparan asap rokok yang merupakan radikal bebas. Studi morfologi menunjukkan bahwa paparan asap rokok sebagai radikal bebas memberikan efek langsung pada struktur dan fungsi plasenta, mengakibatkan penurunan vaskularisasi plasenta yang memicu hipoksia pada janin dan menghasilkan penurunan berat plasenta maupun berat lahir bayi (Wang *et al.*, 2014).

Menurut *The Tobacco Control Atlas ASEAN Region 3rd edition* (2016), jumlah perokok di seluruh dunia kini mencapai 1,1 miliar terdiri dari 945 juta perokok laki-laki dan 180 juta perokok perempuan. Dari jumlah tersebut, 82% diantaranya berada di negara berkembang. Sementara itu *Association of Southeast Asian Nations* (ASEAN) merupakan sebuah kawasan dengan 10,8% dari seluruh perokok dunia dan 20% penyebab kematian global akibat tembakau. Diantara negara-negara ASEAN, Indonesia memiliki jumlah perokok terbanyak dengan persentase 53,3%, kemudian Filipina 13,5%, Vietnam 12,7%,

Thailand 8,9%, Myanmar 5,1%, Malaysia 4,07%, Kamboja 1,4%, Laos 0,67%, Singapura 0,3%, dan Brunei 0,06%.

Asap rokok terdiri dari bahan kimia berbahaya yang meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh. Ibu hamil, baik perokok aktif maupun pasif, akan mentransfer radikal bebas kepada fetus melalui plasenta karena senyawa dalam asap rokok dapat menembus barrier plasenta. Proses tersebut akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) berlebih, yang merupakan oksidan utama dalam tubuh dan sangat potensial menyebabkan kerusakan sel (Agarwal *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014). *Reactive Oxygen Species* (ROS) diketahui dapat menginduksi peroksidasi membran lipid sehingga menimbulkan kerusakan yang akan menyebabkan perubahan struktur biologis kadar cairan membran, serta dapat menonaktifkan ikatan membran dengan reseptor atau enzim yang dapat mengganggu fungsi normal sel (Aydogan *et al.*, 2013).

Malondialdehyde (MDA) merupakan produk akhir dari proses peroksidasi lipid, larut dan dapat dijumpai dalam darah. Dengan adanya radikal bebas yang berasal dari paparan asap rokok yang dapat menembus barrier plasenta, maka akan terjadi proses peroksidasi lipid pada plasenta yang membentuk produk akhir berupa senyawa MDA di plasenta. Jumlah radikal bebas berlebih mengakibatkan peningkatan proses peroksidasi lipid yang searah dengan peningkatan kadar MDA plasenta (Murray, 2009). *Malondialdehyde* (MDA) akan berikatan dengan protein, menghancurkan integritas membran sel, merusak aktivitas transport protein, bersifat autoantibodi dan akhirnya memicu kerusakan sel trofoblast pada plasenta (Dalle Donne *et al.*, 2006).

Penelitian Wang *et al.* (2014) menunjukkan bahwa seiring dengan meningkatnya jumlah rokok yang dikonsumsi ibu maka semakin rendah berat

plasenta janin. Hasil yang signifikan ditunjukkan pada trimester 1 dan 3 untuk ibu yang merokok <21 batang per minggu dan pada trimester 2 untuk ibu yang merokok 11-20 batang per minggu. Berat plasenta dari janin mengalami penurunan dalam rentang 5,14 gr – 18,83 gr dibandingkan berat plasenta janin dengan ibu tidak merokok. Hal ini merupakan akibat dari senyawa berbahaya asap rokok yang melewati barrier plasenta akan mengganggu vaskularisasi vilus plasenta diikuti dengan penurunan aliran darah pada sirkulasi *umbilico-placental*. Jauniaux dan Graham (2007) menyebutkan efek paparan asap rokok pada awal kehamilan dapat menyebabkan abortus, kehamilan ektopik, plasenta previa dan plasenta previa-akreta. Sedangkan paparan asap rokok pada akhir kehamilan dapat menyebabkan solusio plasenta, insufisiensi fungsi plasenta, gangguan pertumbuhan janin, ketuban pecah dini dan prematuritas.

Ditinjau dari tingginya angka perokok di Indonesia dan dampak buruk yang disebabkan oleh asap rokok, ibu hamil membutuhkan perlindungan dari zat berbahaya akibat paparan asap rokok. Perlindungan yang dapat menetralkan radikal bebas itu dapat berupa antioksidan. Antioksidan merupakan suatu zat yang mempunyai sifat menghambat, mencegah kerusakan atau kematian sel akibat reaksi oksidasi (Jauniaux dan Graham, 2007). Antioksidan dapat diperoleh dari berbagai sumber makanan, salah satunya yaitu kefir susu sapi.

Kefir susu sapi merupakan produk yang dihasilkan dari fermentasi susu sapi yang kemudian ditambahkan starter berupa bibit kefir, yaitu kumpulan bakteri asam laktat seperti *Lactobacilli*, *Streptococcus sp* dan beberapa jenis ragi non patogen (Hui, 2006). Wong dan Kitts (2003) menyebutkan bahwa protein dalam kefir susu sapi berpotensi sebagai antioksidan. Ahmed *et al.* (2013) juga menyebutkan bahwa kefir susu sapi memiliki kumpulan komponen dengan

aktivitas antioksidan yang tinggi yakni sebesar 88,6% dalam menghambat peroksidasi lipid. Kefir telah terbukti memiliki kemampuan antioksidan yang sama dengan vitamin E dalam mencegah kerusakan oksidatif akibat CCl₄ (karbon tetraklorida) pada hewan percobaan yang mana aktivitas antioksidan kefir lebih efektif dibandingkan vitamin E.

Pemberian susu kefir secara signifikan menurunkan kadar MDA darah dan meningkatkan kapasitas antioksidan dalam tubuh. Aktivitas antioksidan dalam kefir secara tidak langsung melalui mekanisme menghambat oksidasi, mengurangi radikal hidroksil, superoksida dan peroksida. Aktivitas antioksidan akan memberikan atom hidrogen dari NADP (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) yang nantinya akan mengurangi keberadaan radikal bebas. Efek antioksidan susu kefir secara langsung melalui mekanisme penurunan proses peroksidasi sehingga dapat menurunkan kadar MDA darah (Judiono *et al.*, 2011).

Walaupun kefir susu sapi telah terbukti sebagai sumber antioksidan, tapi sampai saat ini belum dimanfaatkan secara maksimal terhadap ibu hamil terutama untuk mengatasi stress oksidatif yang terjadi di dalam plasenta akibat paparan asap rokok. Pemberian susu kefir diduga dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta sebagai gambaran penurunan aktivitas radikal bebas, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian kefir susu sapi dalam mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang diberi paparan asap rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah kefir susu sapi dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar asap rokok?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh kefir susu sapi dalam mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar asap rokok.

1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus yang ingin dicapai oleh peneliti adalah sebagai berikut :

1. Mengukur peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar asap rokok.
2. Mengukur penurunan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar asap rokok setelah pemberian kefir susu sapi.
3. Mengukur dosis yang dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar asap rokok setelah pemberian kefir susu sapi.

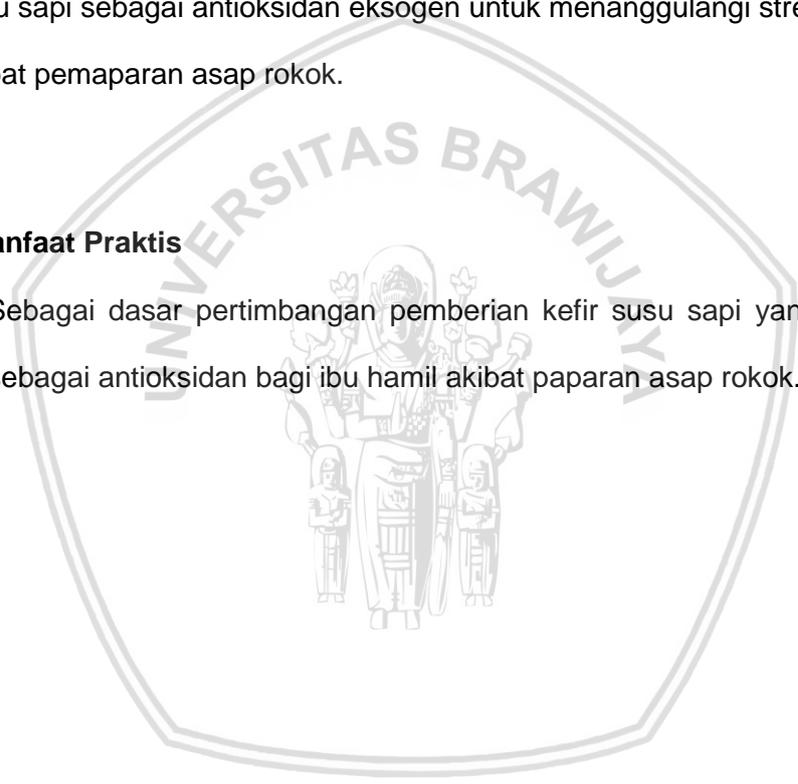
1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Sebagai dasar pengembangan ilmu pengetahuan mengenai manfaat kefir susu sapi terhadap kesehatan terutama kehamilan yang rentan terhadap radikal bebas
2. Sebagai acuan terhadap penelitian yang lebih mendalam mengenai kefir susu sapi sebagai antioksidan eksogen untuk menanggulangi stress oksidatif akibat paparan asap rokok.

1.4.2 Manfaat Praktis

Sebagai dasar pertimbangan pemberian kefir susu sapi yang berfungsi sebagai antioksidan bagi ibu hamil akibat paparan asap rokok.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asap Rokok

2.1.1 Asap Rokok sebagai Radikal Bebas

Rokok merupakan produk yang berasal dari daun tembakau yang dikonsumsi dengan cara dibakar pada ujung satu kemudian dihisap melalui rongga mulut pada ujung lain (Pawitan dan Suryono, 2006). Terdapat dua jenis rokok yang umum yaitu rokok putih dan rokok kretek. Perbedaan kedua jenis rokok tersebut terletak pada komposisinya. Di Indonesia sendiri, rokok yang khas adalah rokok kretek yang memiliki campuran cengkeh di dalamnya (Sitepoe, 2000).

Asap rokok memiliki 2 fase yaitu : fase tar atau padat yang mengandung 10^{29} radikal bebas dan fase gas yang mengandung 10^{30} radikal bebas (Watson dan Mark, 2001). Fase padat mengandung nikotin, nitrosamine, nitrosonorktokin, polisiklik hidrokarbon, logam berat dan karsinogenik amin. Sedangkan fase gas mengandung karbon monoksida, karbon dioksida, benzena, amonia, formaldehid, hidrosianida dan lain-lain (Sitepoe, 2000).

Asap rokok akan menginduksi tubuh untuk memproduksi jumlah radikal bebas berlebih. Dengan demikian kadar antioksidan dalam tubuh akan menurun karena tubuh membutuhkan antioksidan yang cukup untuk proses memperbaiki tubuh dari oksidan sehingga terjadilah ketidakseimbangan antioksidan dan

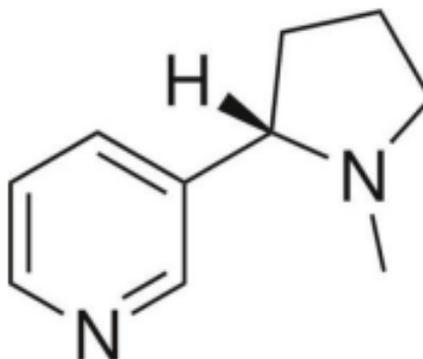
oksidan dalam tubuh. Oksidan merupakan bentukan dari radikal bebas dan zat reaktif yang masuk ke dalam tubuh dan kontak dengan oksigen. Oksidan dapat mengganggu dan menyebabkan mutasi pada molekul sehingga membuat molekul tersebut kehilangan fungsinya (Watson dan Mark, 2001).

Radikal bebas menginduksi kerusakan oksidatif yang tergabung dalam patogenesis penyakit akibat merokok. Radikal bebas akan menginduksi peroksidasi lipid (konversi dari membran *lipid bilayer* menjadi asam lemak yang bersifat radikal). Lemak dan radikal hidroksil bereaksi membentuk rantai reaksi, menyebabkan lebih banyak radikal dengan adanya kontak terhadap oksigen. Rantai reaksi ini akan menyebabkan lemak kehilangan fungsinya di dalam sel (Watson dan Mark, 2001).

Beberapa komposisi rokok yang bersifat toksik antara lain :

1. Nikotin

Kadar nikotin berkisar 0,6% - 3,0% dari berat tembakau kering. Nikotin yang masuk ke dalam aliran darah akan segera menembus *blood-brain barrier* dan menembus otak dalam waktu 10-20 detik. Nikotin memiliki efek samping yaitu meningkatkan tekanan darah dan denyut jantung, merangsang pertumbuhan abnormal dari sel endotel pembuluh darah serta menyebabkan kerusakan pada mikrovaskuler (Le Houzec, 2003). Keadaan ini akan menurunkan sirkulasi darah dari ibu ke janin.

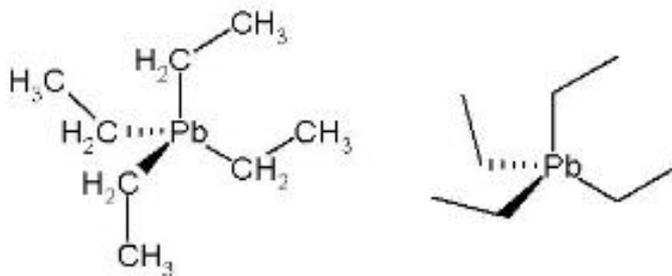


Gambar 2.1 Struktur Kimia Nikotin (Le Houzec, 2003)

2. Timbal (Pb)

Kandungan timbal dalam kadar tertentu dapat meningkatkan frekuensi pembentukan mikronukleus pada sel basal. Timbal banyak terdapat di udara akibat pembakaran yang tidak sempurna pada kendaraan bermotor. Timbal yang dihasilkan oleh sebatang rokok sebesar 0,5 μg , sementara ambang batas bahaya timbal yang masuk ke dalam tubuh adalah 20 μg per hari (Mahardika, 2012).

Sistem perbaikan DNA seperti polymerase, ligase, dan kalmmodulin akan dihambat oleh timbal. Hal ini akan memperlambat perbaikan *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) yang terjadi secara reguler akibat sinar ultraviolet (Patrick, 2006). Timbal juga dapat merusak DNA melalui terbentuknya ROS seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), atau bentuk yang lebih berbahaya seperti radikal hidroksil (OH^\cdot). Timbal juga menghambat enzim yang berfungsi untuk metabolisme radikal bebas seperti enzim glutation sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada DNA (Goniewicz *et al.*, 2009).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Timbal (Mahardika, 2012).

3. Gas karbon monoksida (CO)

Karbon monoksida (CO) dapat menimbulkan kematian dalam jumlah yang cukup besar di dunia setiap tahunnya. Karbon monoksida terdapat di udara akibat emisi gas buang kendaraan, pabrik dan industri, dan asap rokok. Pada dosis rendah, karbon monoksida dapat mempengaruhi performa sistem saraf pusat yang akan mengakibatkan terganggunya penglihatan, penurunan kemampuan belajar, hingga penurunan kewaspadaan dan perhatian (World Health Organization, 1999). Paparan karbon monoksida akan menyebabkan terbentuknya karboksihemoglobin (COHb) pada tubuh. Karboksihemoglobin akan menurunkan kapasitas oksigen dalam mengangkut sel darah merah sehingga dapat menyebabkan kekurangan oksigen pada jaringan. Karbon monoksida menembus barrier plasenta dan berikatan dengan haemoglobin sehingga terjadi penurunan oksigenasi pada janin (Aycicek *et al.*, 2010).

4. Tar

Tar adalah sebutan untuk residu dari pembakaran tembakau yang bersifat racun dan merusak paru-paru melalui berbagai proses biokimiawi. Tar membungkus silia pada epitel paru sehingga partikel-partikel beracun tidak dapat

lagi ditangkap oleh silia tersebut dan menyebabkan rusaknya mukosa rongga mulut, merubah warna gigi, gusi, serta mengurangi kepekaan pengecap di mulut. Komponen tar mengandung sebagian besar dari zat karsinogen yang terdapat dalam asap rokok (Ferlay *et al.*, 2008).

Kandungan bahan kimia berbahaya dalam asap rokok tersebut menjadikan rokok sebagai faktor resiko berbagai macam penyakit. Tercatat bahwa rokok merupakan faktor resiko 6 dari 8 penyakit dunia yang paling mematikan (Shah *et al.*, 2003) . Rokok juga telah membunuh 5,4 juta penduduk dunia dalam setahun, atau setara dengan 1 orang setiap 6 detik meninggal karena rokok. Tidak hanya itu, asap rokok yang dihirup oleh perokok pasif juga menyebabkan gangguan jantung dan pernafasan yang serius pada dewasa, menyebabkan kematian mendadak pada neonatus, dan berat badan lahir rendah pada ibu hamil yang terpapar asap (Ferlay *et al.*, 2008).

2.1.2 Bahaya Asap Rokok pada Ibu Hamil

Paparan asap rokok merupakan sumber stress oksidan pada ibu hamil dan memberikan efek yang sama terhadap janin di dalam kandungan. Produk dari stress oksidatif yang meningkat dapat merusak molekul biologis seperti protein, DNA dan lemak. MDA yang merupakan produk dari peroksidasi lipid bersifat merusak DNA dan lemak pada membran sel sehingga lemak akan kehilangan fungsinya terhadap sel (Watson dan Mark, 2001).

Embrio akan berkembang menjadi janin dengan asupan nutrisi dari ibu seiring bertambahnya usia kehamilan. Nutrien ini diperoleh dari plasenta dan disalurkan melalui tali pusat ke janin. Semua zat yang terdapat di dalam darah ibu akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan janin. Ibu hamil

yang sehat, yang mengonsumsi makanan sehat, tidak merokok dan tidak mengonsumsi alkohol merupakan sumbangan penting untuk perkembangan janin. Merokok atau paparan asap rokok pada ibu hamil tidak hanya menyebabkan gangguan pertumbuhan janin atau berat badan lahir rendah, akan tetapi juga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan setelah lahir (Meyer *et al.*, 2009; Rogers, 2009). Abortus spontan dan komplikasi pada plasenta juga meningkat karena merokok selama masa hamil. Hal ini disebabkan karena plasenta dan ketuban mengalami percepatan degenerasi (Sinclair, 2009).

Plasenta memiliki barrier yang berfungsi menghambat zat tertentu untuk tidak memasuki plasenta dan memasuki darah janin. Komponen yang terdapat dalam asap rokok ternyata mampu melintasi plasenta, sehingga dengan bebas dapat masuk ke sirkulasi uteroplasenter (Suryawinata dan Hariyanto, 2003). Kandungan nikotin dan karbon monoksida pada asap rokok dapat melewati *barrier* plasenta dan menyebabkan ketidakseimbangan sirkulasi utero-plasenter yang ditandai dengan berkurangnya suplai nutrisi dan oksigen ke janin (Zdravkovic *et al.*, 2005).

Nikotin di dalam tubuh melepas asetilkolin, epinefrin, norepinefrin, dan hormon antidiuretik, yang menyebabkan takikardi, peningkatan curah jantung, vasokonstriksi perifer, peningkatan tekanan darah, dan perubahan metabolisme lemak dan karbohidrat. Vasokonstriksi akan mengakibatkan penurunan aliran darah uteroplasenter selama kehamilan. Karbon monoksida menembus barrier plasenta dan berikatan dengan haemoglobin sehingga terjadi penurunan oksigenasi pada janin. Sebagian dari senyawa kimia tersebut bersifat oksidan dan pro-oksidan yang mampu memproduksi ROS. Meningkatnya radikal bebas

memicu penurunan antioksidan alami tubuh dan meningkatnya stress oksidatif (Aycicek *et al.*, 2008).

2.2 Peroksidasi Lipid akibat Radikal Bebas

Reactive Oxygen Species (ROS) terdiri dari superoksida (O_2K^-), radikal bebas hidroksil (OH^\cdot), dan singlet oxygen (O^\cdot) (Jauniaux *et al.*, 2006). Radikal bebas dapat bereaksi dengan berbagai molekul dengan menarik elektron dan menimbulkan radikal bebas berupa rantai oksidatif sitotoksik yang dapat membentuk peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid terjadi ketika adanya interaksi antara lipid dengan radikal bebas. Peroksidasi lipid ini tidak hanya sangat tidak stabil namun juga sangat reaktif dan juga merusak. Peroksidasi lipid merupakan proses oksidasi yang normal ketika berada pada kadar rendah pada sel dan jaringan. Peningkatan peroksidasi lipid yang tidak terkendali menyebabkan kerusakan sel endothelial sel (Gupta *et al.*, 2007; Patil *et al.*, 2007).

Stres oksidatif menginduksi peroksidasi membran lipid sehingga dapat menimbulkan kerusakan yang akan menyebabkan perubahan struktur biologis kadar cairan membran, serta dapat menonaktifkan ikatan membran dengan reseptor atau enzim yang dapat mengganggu fungsi normal sel (Dalle-Donne *et al.*, 2006). Peroksidasi lipid terdapat dalam darah dan urin sebagai indikator kerusakan membran sel oleh ROS (Eberhardt, 2001).

Peroksidasi lipid diinduksi efek pro-oksidan dari logam transisi. Reaksi antara ion logam, H_2O_2 dan hiperoksida terjadi di sitosol dan membran sel, yang merupakan target utama kerusakan oksidatif. Logam transisi menginisiasi peroksidasi lipid dengan cara mengikat molekul fosfolipid bermuatan negatif dan

mengubah sifat fisiknya sehingga menyebabkan inisiasi dan propagasi peroksidasi lipid (Repetto *et al.*, 2010; Repetto dan Boveris, 2012).

Peroksidasi lipid diindikasikan dengan pelepasan atom hidrogen (H) atau penambahan radikal oksigen yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) dengan cara menyerang jembatan metilen teraktivasi (RH). Berikut adalah reaksi yang terjadi (Repetto *et al.*, 2012).



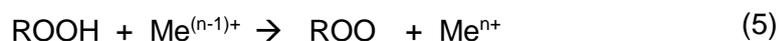
Radikal peroksil lipid dibentuk oleh reaksi antara oksigen molekular dan radikal (R) seperti berikut (Repetto *et al.*, 2012).



Pembentukan ROO memicu produksi hidroperoksid organik (ROOH) yang dapat melepaskan hidrogen dari PUFA lainnya, seperti berikut Repetto *et al.*, 2012).



Hidroperoksil lipid (ROOH) merupakan produk pertama peroksidasi lipid yang stabil. Kehadiran ion logam transisi akan menyebabkan kapabilitas radikal untuk menginisiasi peroksidasi lipid secara terus-menerus, seperti berikut (Repetto dan Boveris, 2012).



Peroksidasi lipid teridentifikasi menghasilkan sebanyak 32 aldehid sebagai metabolit sekunder, diantaranya : a) *saturated aldehydes* (propanal, butanal, hexanal, oktanal, dan yang terpenting akan berubah menjadi dekanal); b) *2,3-trans-unsaturated-aldehydes* (hexenal, octenal, nonenal, decenal dan undecenal); c) serangkaian dari *4-hydroxylated,2,3-trans-unsaturated aldehydes* : *4-hydroxyundecenal*, yang akan menjadi *4-hydroxinonenal* (HNE). MDA

merupakan produk utama metabolit peroksidasi lipid (Repetto *et al.*, 2012). Tingginya kadar MDA merupakan indikasi tingginya kerusakan membran sel (Kunia *et al.*, 2011).

2.3 Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) merupakan produk metabolit sekunder dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksil) dengan PUFA. Reaksi tersebut terjadi secara berantai, akibat akhir dari reaksi rantai tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida (ROOH). Hidrogen peroksida tersebut dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel dan berbeda panjang rantainya, antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk dan biasanya digunakan sebagai biomarker biologis untuk menilai stres oksidatif (Patil *et al.*, 2011; Aydogan *et al.*, 2013).

Banyak aldehyd yang merupakan metabolit sekunder dari peroksidasi lipid, salah satunya adalah MDA. *Malondialdehyde* bersifat jauh lebih stabil dan bisa berdifusi ke luar sel lalu menyerang targetnya yang jauh dari tempat diproduksi. Aldehyd bersifat reaktif dengan molekul biologis seperti, protein, DNA dan fosfolipid (Repetto *et al.*, 2012).

Dalam kondisi fisiologis, kadar aldehyd rendah, tapi ketika kadarnya tinggi akan mengakibatkan berbagai keadaan patologis. Aldehyd yang reaktif terhadap DNA akan merusak DNA dengan cara berikatan langsung dengan basa nitrogen DNA. MDA telah terbukti menyebabkan banyak modifikasi basa nitrogen DNA, menyebabkan lesi promutagenik yang berkontribusi terhadap terjadinya mutasi

dan efek karsinogenik yang berhubungan dengan stress oksidatif sebagai pemicu peroksidasi lipid (*Repetto et al.*, 2012).

Malondialdehyde (MDA) dapat menyebabkan kerusakan protein karena MDA dapat meningkatkan reaksi dengan lisin, sistein dan histidin (*Esterbauer et al.*, 1991; Esterbauer, 1996). Modifikasi protein oleh MDA menyebabkan penyakit neurodegeneratif, aktivasi kinase dan menghambat faktor transkripsi (*Camandola et al.*, 2000; Uchida, 2003).

2.4 Kefir Susu Sapi

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang meskipun terdapat dalam konsentrasi yang kecil tetapi dapat menghambat atau mencegah proses oksidasi dari bahan-bahan yang dapat teroksidasi secara signifikan. Antioksidan bereaksi dengan oksigen sehingga dapat mengurangi kapasitas oksidan yang menimbulkan kerusakan. Sistem antioksidan tubuh dapat melindungi jaringan dari efek negatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas, tapi tubuh tidak bisa seratus persen untuk menghilangkan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (*Astutik*, 2013). Asupan tambahan yang kaya akan antioksidan seperti antioksidan yang terkandung dalam susu kefir dapat membantu tubuh untuk mengatasi radikal bebas.

2.4.1 Proses Pembuatan Kefir Susu Sapi

Kefir sering juga disebut "yogurt Rusia". Cara pembuatan kefir kurang lebih sama dengan pembuatan yogurt. Perbedaannya terletak pada bibit yang digunakan, untuk kefir dibutuhkan bibit kefir. Disamping itu waktu fermentasi kefir lebih lebih lama dibandingkan yogurt. Bibit kefir adalah campuran protein susu

dan mikroba kefir yang berbentuk seperti biji-biji berwarna putih kekuningan, berukuran 0,1–2 cm (Widodo, 2002).

Langkah pembuatan kefir yaitu, seliter susu dimasak hingga mendidih. Kemudian api dipadamkan dan ditunggu sampai susu dingin. Sejumlah biji kefir dimasukkan ke dalam susu, kurang lebih 2–5 g per liter susu (semakin banyak biji yang ditambahkan tentunya berakibat proses fermentasi menjadi lebih cepat). Setelah selesai, bahan disimpan selama 10–12 jam. Untuk menghasilkan kefir yang mengandung gas, perlu disimpan dalam wadah yang ditutup rapat (kedap udara). Jika wadah terbuka atau ditutup tidak rapat, hasil kefir akan menyerupai yogurt polos. Setelah penyimpanan sekitar 6 jam dilakukan pengadukan secukupnya. Kemudian biji kefir disaring dan dipisahkan dari kefir yang baru jadi. Kefir dapat langsung diminum atau ditutup wadah kefir dan disimpan lagi selama 12–24 jam sebelum diminum (Widodo, 2002).



Gambar 2.3 Bibit Kefir (Hui et al., 2004)

2.4.2 Kandungan Gizi dalam Kefir Susu Sapi

Kandungan gizi kefir hampir sama dengan gizi susu yang menjadi bahan pembuatan kefir. Kelebihannya dibandingkan dengan susu segar adalah karena

asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk sehingga mencegah kerusakan susu dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga meningkatkan keamanan produk kefir (Ide, 2008).

Kefir kaya akan Kalsium, Asam Amino, Magnesium, berbagai vitamin B, vitamin K, Zinc dan Asam Folat. Kandungan gizi dalam kefir susu sapi disajikan dalam **tabel 2.1** (Ide, 2008).

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Kefir (Ide,2008)

Kandungan Gizi Kefir Per porsi (227 g)	
Energi	160 kkal
Karbohidrat	8 g
Protein	14 g
Lemak	3 g
Natrium	90 mg
Kalsium	300 mg
Vitamin A	500 IU
Vitamin D	100 IU

Kandungan protein kefir lebih mudah dicerna dan mengandung asam amino triptophan yang memiliki efek relaksasi. Beberapa bakteri baik juga terkandung pada kefir, antara lain *Lactobacillus Acidophilus*, *Lb Kefiri*, *Lb. Kefirgranum*, *Lb. Parakefir*, *Lb. Delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Lb Fructivorans*, *Lb. Kefiranofaciens* dan *Lactococci*. Bakteri tersebut merupakan bakteri yang sangat berguna untuk kesehatan tubuh (Ide, 2008).

2.4.3 Metabolisme Senyawa Protein dari Kefir Susu Sapi

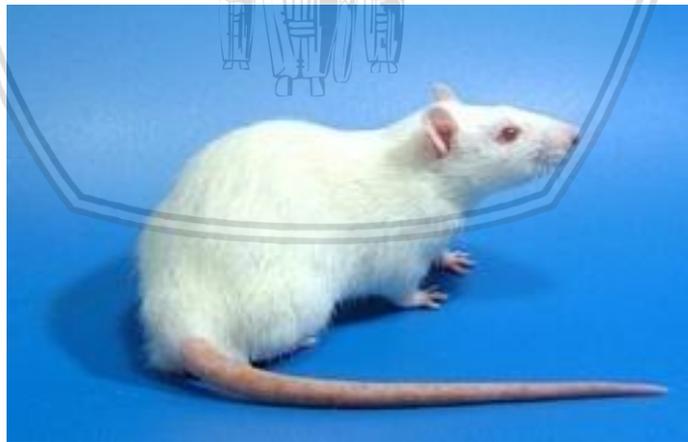
Pemberian susu kefir secara signifikan menurunkan kadar MDA dalam darah dan meningkatkan kapasitas antioksidan dalam tubuh. Aktivitas antioksidan dalam kefir secara tidak langsung melalui mekanisme menghambat oksidasi, mengurangi radikal hidroksil, superoksida dan peroksida. Aktivitas antioksidan akan memberikan atom hidrogen dari NADP yang nantinya akan mengurangi keberadaan radikal bebas. Efek antioksidan susu kefir secara langsung melalui mekanisme penurunan proses peroksidasi sehingga dapat menurunkan kadar MDA (Judiono *et al.*, 2011).

Protein yang berasal dari produk susu memiliki beberapa potensi antioksidan (Wong and Kitts, 2003). Pena Ramos dan Xiong (2001) menemukan bahwa peptida yang berasal dari hidrolisat protein susu menghambat oksidasi lipid, menunjukkan bahwa residu asam amino kelompok rantai samping tertentu atau struktur peptida spesifik dari peptida antioksidan disebabkan adanya ion logam prooksidatif dan pemutusan reaksi radikal. Susu sapi yang difermentasi dengan bibit kefir selama 32 jam menunjukkan hasil yang signifikan dalam menghambat peroksidasi asam linoleik dibandingkan susu sapi segar (Liu *et al.*, 2005).

2.5 Tikus Putih (*Ratus novergicus*)

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih dengan nama ilmiah *Rattus novergicus*. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba karena mempunyai respon yang cepat serta dapat memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia.

Dalam kode etik penelitian kesehatan dicantumkan bahwa salah satu prinsip dasar riset biomedis dimana manusia sebagai subjek harus memenuhi prinsip ilmiah yang telah diakui dan harus didasarkan atas eksperimen laboratorium dan hewan percobaan yang memadai serta berdasarkan pengetahuan yang lengkap dari literatur ilmiah (Ridwan, 2013). Temperatur 19°C hingga 23°C dengan kelembaban 40-70% merupakan temperatur yang cocok untuk habitat tikus yang juga tergolong dalam hewan nokturnal (Wolfenshon dan Lloyd, 2013). Wolfenshon dan Lloyd (2013) menyatakan bahwa berat tikus jantan dewasa yaitu 450-520 gram sedangkan berat 250-300 gram berlaku pada tikus betina. Tikus jantan lebih berat dibanding tikus betina pada semua kelompok umur serta terjadinya perubahan bobot organ (ginjal, hati, paru, dan limpa), nilai hematologi, nilai biokimia darah yang terdiri dari AST (Aspartat Transaminase) dan ALT (Alanin Aminotransferase) seiring dengan bertambahnya umur tikus (Marice dan Sulistyowati, 2011).

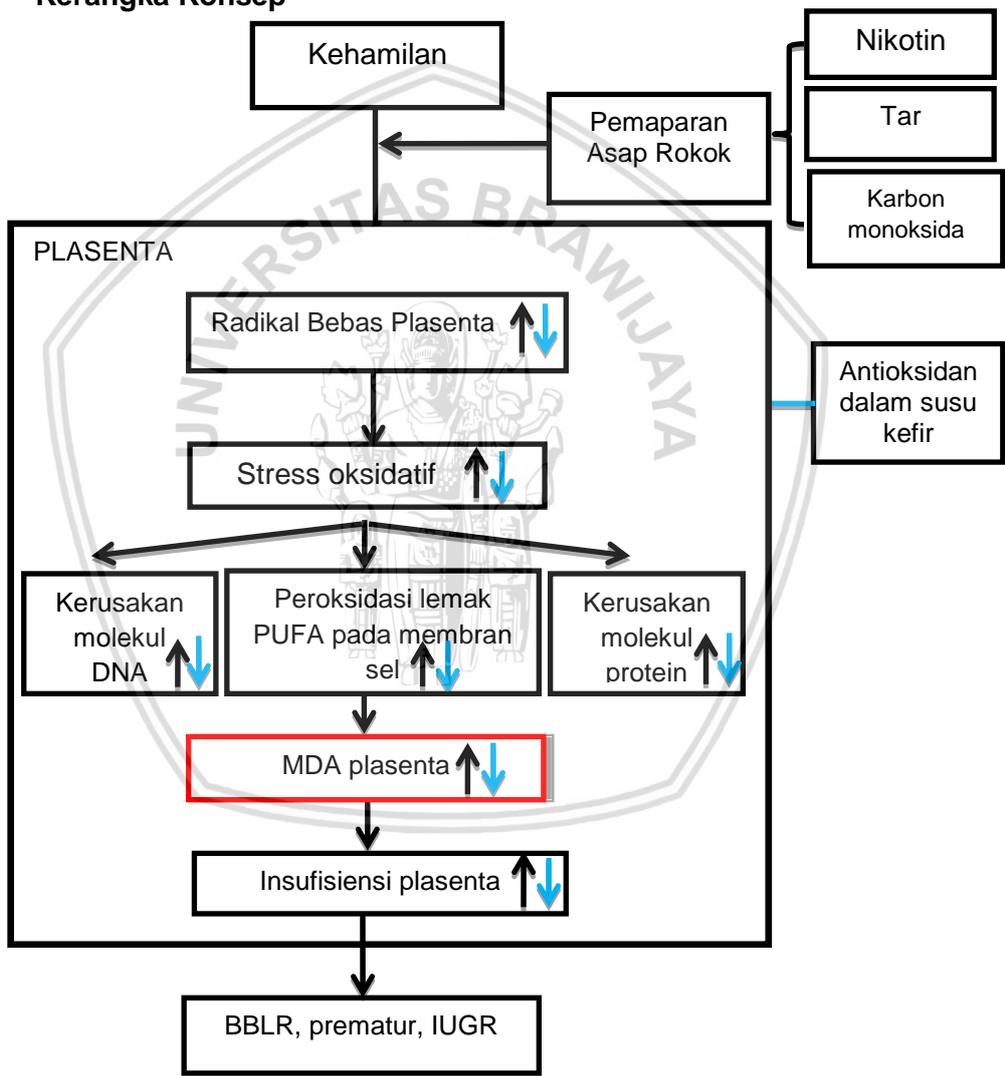


Gambar 2.4 Tikus *Rattus norvegicus* (Hedrich, 2006)

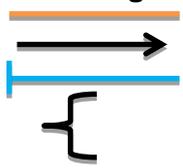
BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Skema 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :

 : Variabel yang diteliti
 : Menginduksi
 : Menghambat
 : Kandungan

Kandungan tar, nikotin dan karbon monoksida dalam asap rokok terdiri dari zat berbahaya bagi tubuh, zat yang sebagian besar bersifat karsinogenik yang dapat menyebabkan penyakit kanker. Asap rokok akan menginduksi tubuh untuk memproduksi radikal bebas berlebih sehingga kadar antioksidan dalam tubuh akan menurun dan terjadi ketidakseimbangan akibat tingginya kadar oksidan yang tidak dapat dikompensasi oleh tubuh. Ketika radikal bebas berlebih yang disertai dengan penurunan antioksidan maka akan terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif meningkat ketika sel tidak dapat menghancurkan produksi radikal bebas berlebih.

Makromolekul seluler termasuk lemak, protein dan DNA merupakan target utama oksidasi. PUFA merupakan penyusun membran sel, zat ini merupakan target utama oksigen reaktif sehingga dapat menjadi penyebab kerusakan membran sel. Kadar MDA merupakan suatu produk metabolisme sekunder dari proses peroksidasi lipid dan merupakan biomarker untuk menilai terjadinya stress oksidatif.

Susu kefir kaya akan antioksidan dan mengandung banyak nutrisi seperti kalsium, asam amino, magnesium dan berbagai vitamin. Pada penelitian sebelumnya pemberian susu kefir secara signifikan mampu meningkatkan kapasitas antioksidan dalam tubuh. Antioksidan dalam susu kefir akan memberikan donor hidrogen sehingga dapat menangkal radikal bebas. Dengan diberikannya kefir susu sapi pada tikus bunting yang dipapar asap rokok kemungkinan dapat menghambat terjadinya peroksidasi lipid sehingga dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus bunting.

3.2 Hipotesis Penelitian

Kefir susu sapi dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.



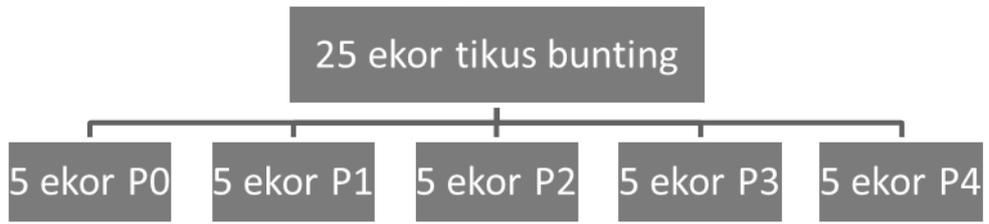
BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Sampel dibagi kedalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (-) dan kelompok kontrol positif (+). Kelompok kontrol negatif (-) adalah tikus bunting yang tidak diberi pemaparan asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi sedangkan kelompok kontrol positif (+) adalah tikus bunting yang diberi pemaparan asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi. Kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok, yaitu tikus bunting yang diberi pemaparan asap rokok dengan pemberian kefir susu sapi dengan dosis yang berbeda menggunakan sonde. Pemberian kefir susu sapi dilakukan pada hari ke-5 sampai hari ke-18 kebuntingan. Pemaparan asap rokok dilakukan pada hari ke-5 sampai hari ke-18 kebuntingan. Pembedahan tikus untuk mengukur kadar MDA plasenta dilakukan pada hari ke-19 kebuntingan. Penilaian hanya dilakukan pada *post test* dengan membandingkan kadar MDA (*Malondialdehyde*) plasenta antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tabel 4.1 Tabel Pembagian Kelompok Hewan Coba



Keterangan :

- P0 = Kelompok kontrol negatif : tanpa pemaparan asap rokok dan tanpa kefir susu sapi
- P1 = Kelompok kontrol positif : diberi pemaparan asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi
- P2 = diberi pemaparan asap rokok dengan pemberian kefir susu sapi dosis 2,5ml/kg bb/hari
- P3 = diberi pemaparan asap rokok dengan pemberian kefir susu sapi dosis 5ml/kg bb/hari
- P4 = diberi pemaparan asap rokok dengan pemberian kefir susu sapi dosis 10ml/kg bb/hari

4.2 Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus jenis *Rattus norvegicus* strain wistar bunting sebagai hewan coba dipelihara di kandang yang bersih.

Pembagian sampel dibagi dalam jumlah replikasi (n) pada setiap perlakuan (p) yang dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Notoadmojo, 2010) dengan p=5. Perhitungan sampel adalah sebagai berikut:

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

$$Pn - p \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Hasil perhitungan menunjukkan jumlah replikasi per kelompok $n \geq 4$, maka replikasi per kelompok minimal 4. Dalam penelitian ini jumlah replikasi per kelompok adalah 4.

4.2.1 Kriteria Inklusi

- a. Jenis tikus betina yang sedang bunting
- b. Tikus dalam keadaan sehat yang ditandai dengan bulu bersih dan tidak rontok, nafsu makan baik, serta keaktifan normal
- c. Usia tikus minimal 8 minggu
- d. Berat badan berkisar antara 130-160 gr

4.2.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama masa penelitian
- b. Tikus terlalu cepat melahirkan (keguguran atau prematur)

4.2.3 Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel

Dalam menentukan subyek penelitian, peneliti menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan sebagai pengelompokan dan pemberian perlakuan dengan teknik randomisasi. Dikarenakan hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian homogen,

maka metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dianggap cocok sebagai teknik randomisasi pada penelitian ini. Setiap hewan coba memiliki peluang yang sama untuk berkesempatan sebagai sampel pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Tergantung

Perubahan kadar MDA pada plasenta tikus bunting akibat pemaparan asap rokok.

4.3.2 Variabel Bebas

- a. Pemaparan asap rokok.
- b. Pemberian kefir susu sapi dalam 3 dosis.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama kurang lebih 4 bulan yaitu pada bulan Oktober 2017- Januari 2018.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

4.5.1.1 Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba

Alat untuk peliharaan hewan coba ialah kandang tikus yang berupa box plastik ukuran 12 x 35 x 43 cm sejumlah 20 buah yang diisi

dengan sekam dan ditutup dengan kawat kasa. Setiap kandang ditempati oleh 1 ekor tikus bunting. Tempat makan dan minum.

4.5.1.2 Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba

Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur, wadah minum, pengaduk, sonde lambung dan nampan.

4.5.1.3 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

Neraca digital

4.5.1.4 Alat untuk Pemberian Kefir Susu Sapi

Alat untuk pemberian kefir susu sapi dengan menggunakan sonde

4.5.1.5 Alat untuk Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba

Alat untuk pemaparan asap rokok pada hewan coba menggunakan *smooking pump* buatan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Alat ini berupa sebuah kotak yang terbuat dari *fiberglass*, yang terdiri dari tiga ruangan yang masing-masing berukuran 26 x 12 x 12 cm². Pada setiap ruangan terdapat pipa sebagai pengalih asap rokok. Ketiga pipa keluar menyatu dengan pipa yang dipasang rokok. Selain itu, terdapat pula pompa yang berfungsi sebagai penghisap rokok yang kerjanya dibantu dengan adanya adaptor. Selanjutnya terdapat dua klep yang dapat membuka dan menutup secara otomatis saat penghisapan dan penutupan asap rokok yang keluar masuk kotak (Widodo, 2006).

4.5.1.6 Alat untuk Pembedahan dan Pengambilan Plasenta

Alat untuk pembedahan dan pengambilan organ plasenta antara lain : Kapas, Scalpel, Gunting, Pinset, Jarum pentul, Alas kayu, *Handscoon*.

4.5.1.7 Alat untuk Pengukuran MDA

Alat untuk pengukuran kadar MDA antara lain: Pipet, Timbangan, *Centrifuge*, Tabung reaksi, *Water bath*, Spektrofotometer, *Vortex*, *Micropipette*, Seperangkat tabung reaksi, Mortar dingin.

4.5.2 Bahan

4.5.2.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba

a. Makanan hewan coba adalah makanan pakan standart.

Bahan makanan tikus dari beberapa penelitian sebelumnya, diketahui bahwa kebutuhan makan tikus per ekor setiap harinya adalah 40 gram yang terdiri dari : Comfeed PARS Boiler (BR1), Terigu, Air.

b. Minuman hewan coba adalah air mineral.

4.5.2.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba

a. Rokok

Pemaparan asap rokok menggunakan asap rokok kretek

b. Kefir Susu Sapi

Kefir susu sapi dibeli dari penggiat kefir di kota Malang.

4.5.2.3 Bahan untuk Pemeriksaan MDA

Bahan untuk pemeriksaan MDA antara lain :TCA (*Tri Chloride Acetil Acid*) 15% 250 μ L, HCL 250 μ L, Na Thiobarbituric Acid 1% 200 μ L, PBS pH 7.4, Aquades, Plasenta.

4.6 Definisi Istilah/Operasional

1. Hewan coba

Hewan coba ialah tikus (*Rattus norvegicus*) betina bunting yang berusia minimal 8 minggu dengan berat badan 130-160 gram.

2. Tikus bunting

Tikus bunting ialah tikus betina yang telah dikawinkan dengan tikus jantan dan menunjukkan tanda-tanda kebuntingan yaitu terdapat sumbat vagina (*vaginal plaque*) yang merupakan penggumpalan air mani dan berasal dari sekresi kelenjar khusus betina.

3. Usia kebuntingan

Usia kebuntingan tikus dihitung dari pertama kali muncul *vaginal plaque* sampai hari ke-19.

4. Asap rokok

Pemaparan asap rokok dimulai pada hari ke-5 kebuntingan selama 14 hari menggunakan rokok kretek yang dipaparkan menggunakan alat *smooking pump* milik Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pemaparan asap rokok diberikan pada sore hari selama 14 hari.

5. Kefir susu sapi

Kefir susu sapi merupakan produk yang dihasilkan dari fermentasi susu sapi yang kemudian ditambahkan bibit kefir. Kefir susu sapi diberikan secara oral menggunakan sonde dengan pengelompokan dosis yang ditentukan dalam rancangan penelitian yaitu: 2,5 ml/kg BB/hari, 5 ml/kg BB/hari, 10 ml/kg BB/hari.

6. *Malondialdehyde* (MDA)

Malondialdehyde merupakan suatu produk hasil peroksidasi lemak akibat stress oksidatif dikarenakan jumlah oksidan yang berlebih di dalam tubuh sedangkan jumlah antioksidan tidak mampu mengimbangnya. *Malondialdehyde* (MDA) plasenta tikus bunting diukur dengan metode *thibarbituric acid* (TBA) (Del Rio et al, 2005).

4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

4.7.1 Penentuan Dosis

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fahmy dan Amel (2015) yang meneliti tentang efek kefir susu sapi yang telah terbukti bahwa kandungan dalam susu kefir merupakan antioksidan alami dan mampu menangkap radikal bebas sehingga dapat memelihara kadar MDA, GSH (*glutathione*) dan aktivitas GSH-Px (*glutathione peroxidase*) mendekati keadaan normal yang mengatur aktivitas MMP-2 (matriks metalloproteinase-2) dan MMP-9 (matriks metalloproteinase-9) sehingga mampu melindungi DNA dari kerusakan oksidatif dengan pemberian dosis kefir susu sapi sebesar 5ml/kgBB/hari. Oleh karena itu, peneliti menggunakan dosis 2,5 ml/kgBB/hari ; 5 ml/kgBB/hari ; 10 ml/kgBB/hari.

4.7.2 Perlakuan Terhadap Tikus

4.7.2.1 Prosedur Aklimatisasi

Adaptasi hewan coba dilakukan selama tujuh hari terhadap kondisi air, makanan, dan suhu di dalam laboratorium.

4.7.2.2 Penentuan Kelompok Perlakuan

Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang terdiri dari 5 ekor tikus bunting pada setiap kelompok dengan rincian sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol
 - a. Kelompok kontrol negatif: tanpa dipapar asap rokok sub akut dan tanpa pemberian kefir susu sapi
 - b. Kelompok kontrol positif: pemaparan asap rokok subakut dan tanpa pemberian kefir susu sapi
2. Kelompok perlakuan
 - a. Kelompok perlakuan 1: pemaparan asap rokok dan diberi kefir susu sapi dengan dosis 2,5 ml/kgBB
 - b. Kelompok perlakuan 2: pemaparan asap rokok dan diberi kefir susu sapi dengan dosis 5 ml/kgBB
 - c. Kelompok perlakuan 3: pemaparan asap rokok dan diberi kefir susu sapi dengan dosis 10 ml/kgBB

4.7.2.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba

Waktu kawin tikus dilakukan pada fase estrus, fase dimana tikus betina berkeinginan untuk kawin dan dapat menerima kopulasi. Pengawinan tikus dilakukan jika sudah ada tanda estrus dan biasanya dilakukan pada malam hari. Pengawinan dilakukan dengan mencampurkan dua ekor tikus betina dan satu ekor tikus jantan dengan perbandingan 1:2 dalam satu kandang. Tikus jantan dimasukkan pada kandang tikus betina dimana sekam yang ada pada kandang tikus betina dibersihkan agar memudahkan dalam mengamati *vaginal plaque*. Keesokan harinya dilakukan pengecekan *vaginal plaque*, apabila

ditemukan *vaginal plaque* maka hari tersebut dihitung sebagai hari ke nol kebuntingan. Tikus yang telah bunting diberi label (*permanent board marker*) pada ekor lalu dimasukkan ke dalam kelompok yang telah ditentukan kemudian akan mendapat perlakuan. Sedangkan yang belum bunting dicampur kembali dengan tikus jantan sama seperti prosedur sebelumnya (Kaufman, 1992; Samsuria, 2009).

4.7.2.4 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba dipelihara dan diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama tujuh hari pada suhu ruangan yang konstan. Hewan coba dipelihara pada box plastik ukuran 12x35x43 cm sejumlah 1 buah yang ditutup dengan kawat kasa dan diisi dengan sekam yang diganti setiap tiga hari sekali. Setiap kandang ditempati oleh 1 ekor tikus bunting. Hewan coba diberi makan sejumlah 40 gram per ekor setiap harinya.

4.7.2.5 Prosedur Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba

Pemaparan asap rokok dilakukan pada hari ke-5 hingga hari ke-18 kebuntingan sejumlah 1 batang perhari selama 7,5 menit (Gamagita, 2016). Prosedur pemaparan asap rokok menurut standar pemaparan asap rokok Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya adalah sebagai berikut:

- a. Tikus ditimbang berat badannya dengan neraca Ohaus sebelum pemaparan asap rokok
- b. Tempat pemaparan dibersihkan dari kotoran dan sisa asap
- c. Nikotin yang masih melekat di *smocking pump* dibersihkan terlebih dahulu
- d. Power dan *self voltage* diperiksa

- e. Rokok dipasang pada pipa sampai batas merah
- f. Tiga ekor dimasukkan ke dalam kotak dan segera ditutup, karena pada *smooking pump* hanya tersedia tiga ruangan
- g. Setiap pemaparan asap rokok dilakukan dengan menjalankan pompa selama 7,5 menit untuk 1 batang rokok, kemudian alat dimatikan, tutup dibuka dan selanjutnya tikus segera dipindahkan ke kandang semula
- h. Setiap pemaparan berikutnya kotak selalu dibersihkan dahulu dari sisa asap rokok perlakuan sebelumnya
- i. Pompa tetap dijalankan tanpa rokok untuk mengeluarkan sisa asap
- j. Tahap-tahap di atas diulangi untuk kelompok tikus berikutnya

4.7.2.6 Prosedur Pemberian Kefir Susu Sapi

Kefir susu sapi diberikan sejak hari ke-5 sampai hari ke-18 kebuntingan. Kefir susu sapi dimasukkan ke dalam spuit 3 ml yang telah terpasang sonde, kemudian sonde dimasukkan secara oral ke dalam mulut tikus hingga mencapai lambung tikus.

4.7.3 Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Plasenta

Pada hari ke-19 kebuntingan dilakukan pembedahan, pengambilan plasenta, serta pengukuran kadar MDA. Pada proses pembedahan, tikus sebelumnya dimatikan terlebih dahulu dengan injeksi ketamin. Selanjutnya tikus dibedah dan diambil organ plasentanya. Kemudian plasenta tikus dibawa ke Laboratorium Farmakologi Fakultas

Kedokteran Universitas Brawijaya untuk dilakukan pengukuran kadar MDA. Sedangkan bangkai induk tikus dan anak tikus yang sudah tidak digunakan lagi dikubur oleh petugas laboratorium.

4.7.4 Prosedur Pengukuran *Malondialdehyde* (MDA)

Plasenta sebanyak 200 mg dipotong kecil-kecil lalu digerus menggunakan mortar dingin yang diletakkan di atas balok es. Kemudian ditambahkan 2 cc buffer fosfat. Selanjutnya homogenasikan, dan bagi 2 cc tersebut menjadi 1 cc dalam tabung kontrol (sebagai standar) dan 1 cc dalam tabung tes. Pada tabung kontrol tambahkan 15% TCA 250 μ L dan 250 μ L HCl lalu homogenasikan menggunakan vortex. Pada tabung tes tambahkan 15% TCA 250 μ L, 250 μ L HCl dan 200 μ L Na-Thiobarbituric acid 1% homogenasikan pula dengan vortex. TCA berfungsi menghancurkan dan mengendapan protein. Adanya protein akan mengganggu munculnya warna merah muda dari kompleks MDA-TBA. Na Thio akan bereaksi dengan MDA sedangkan HCl berfungsi mengkondisikan reaksi dalam suasana asam. Selanjutnya panaskan kedua tabung (tabung kontrol dan tabung tes) ke dalam *waterbath* dengan temperatur 105^o selama 15 menit untuk menghidrolisis peroksidasi lipid sehingga semua MDA yang terikat dapat dibebaskan dan bereaksi dengan TBA. Kemudian sentrifugasikan dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit lalu angkat dan biarkan pada suhu kamar. Selanjutnya ambil supernatant dan pindahkan ke dalam tabung reaksi baru dan tambahkan 3 cc aquades pada masing-masing tabung. Prinsip pengukuran MDA adalah reaksi satu molekul MDA dengan 2 molekul

TBA membentuk warna merah muda yang diukur pada spektrofotometer panjang gelombang 532 nm. *Malondialdehyde* akan melakukan reaksi penambahan nukleofilik dengan TBA membentuk senyawa MDA-TBA. Semakin pekat warna yang dihasilkan maka konsentrasi MDA juga akan semakin tinggi.

4.8 Analisis Data

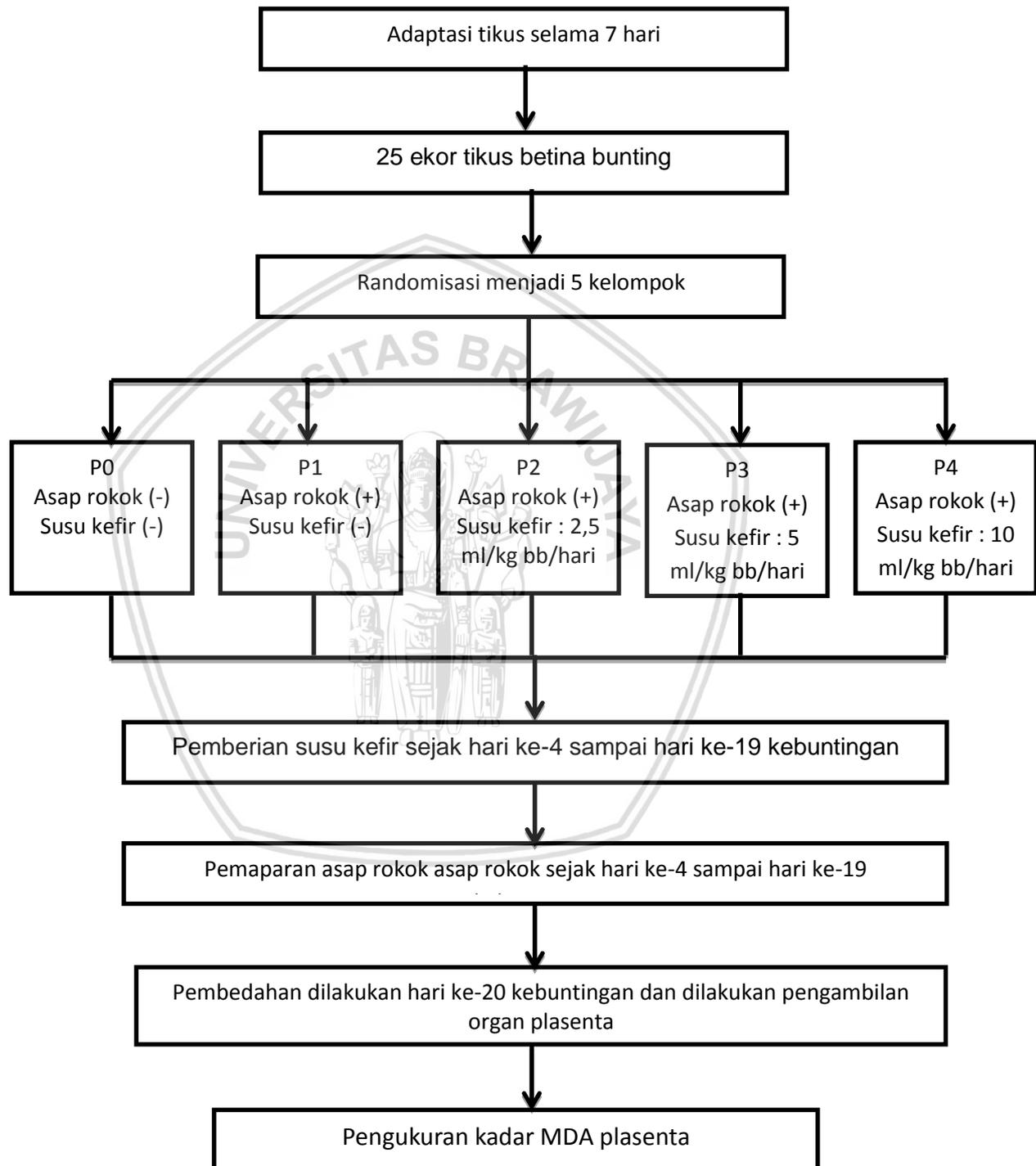
Hasil pengukuran MDA plasenta tikus antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dianalisa secara statistik menggunakan program SPSS 19,0 for Windows XP dengan tingkat signifikansi 0,005 ($p=0,005$) dan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$). Berikut merupakan langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan koelatif:

1. Uji normalitas data: uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah data bersifat normal atau tidak. Hal ini dikarenakan pemilihan data dan uji hipotesis tergantung pada normal atau tidaknya distribusi data. Jika data terdistribusi secara normal maka menggunakan mean dan standar deviasi terdistribusi secara tidak normal maka menggunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran pada penyajian data. Untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal maka menggunakan uji parametrik. Sedangkan jika sebaran data tidak normal maka menggunakan uji non parametrik.
2. Uji homogenitas varian: uji ini bertujuan untuk menguji Anova berlaku atau tidak, yaitu apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan

memiliki varian yang homogen atau tidak. Jika varian homogen maka Anova dapat digunakan.

3. Uji *One Way ANOVA* (analisa varian satu arah): uji ini bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui terdapat minimal dua kelompok yang berbeda signifikan.
4. *Post Hoc Test* (uji Tukey-HSD): uji ini bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil uji tes Anova. Uji post hoc yang digunakan adalah uji Tukey dengan tingkat kemaknaan 95% ($p < 0,05$).
5. Uji Korelasi *Pearson*: untuk mengukur kekuatan hubungan dua variabel atau lebih yang berskala interval (parametrik). Pada uji korelasi Pearson, bila didapatkan:
 - 1) Sig. (p) $> 0,05$: tidak ada korelasi antara dua variabel.
Sig. (p) $< 0,05$: ada korelasi antara dua variabel.
 - 2) Kekuatan korelasi $> 0,5$: korelasi yang cukup kuat.
Kekuatan korelasi $< 0,5$: korelasi yang lemah.
 - 3) Arah korelasi positif (+): searah. Semakin besar nilai suatu variabel, semakin besar pula nilai variabel lainnya.
Arah korelasi negatif (-): berlawanan arah. Semakin besar nilai suatu variabel, semakin kecil nilai variabel lainnya.

4.9 Skema Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

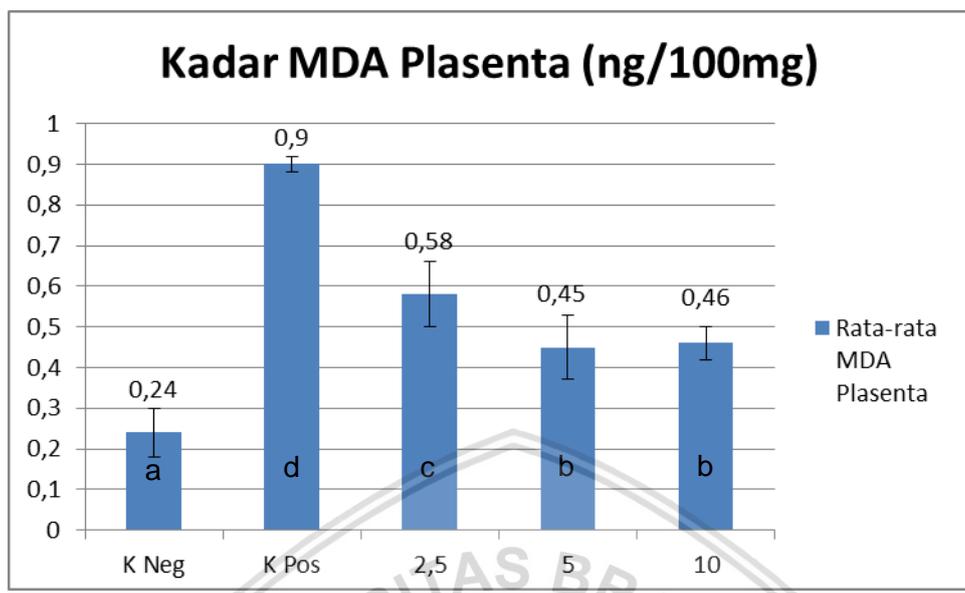
Hasil pengukuran rata-rata kadar MDA plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan dengan 3 dosis berbeda disajikan ke dalam **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar MDA Plasenta Tikus Setelah Dipapar Asap Rokok dan Diberikan Kefir Susu Sapi

Kelompok	Kadar MDA Plasenta (n=4) (ng/100mg)				Rata-Rata Kadar MDA Plasenta \pm Std. Deviasi
Kontrol (-)	0,19	0,18	0,30	0,27	0,24 \pm 0,06
Kontrol(+)	0,91	0,90	0,92	0,87	0,90 \pm 0,02
P 1	0,65	0,61	0,59	0,47	0,58 \pm 0,08
P 2	0,54	0,49	0,39	0,38	0,45 \pm 0,08
P 3	0,50	0,41	0,45	0,48	0,46 \pm 0,04

Keterangan :

- Kontrol negatif : tanpa dipapar asap rokok dan tanpa pemberian kefir susu sapi
- Kontrol positif : pemaparan asap rokok tanpa pemberian kefir susu sapi
- Perlakuan 1 : pemaparan asap rokok dan diberi kefir susu sapi dosis 2,5ml/kgBB dimulai hari ke 5 kebuntingan sampai hari ke 18 kebuntingan.
- Perlakuan 2 : pemaparan asap rokok dan diberi kefir susu sapi dosis 5ml/kgBB dimulai hari ke 5 kebuntingan sampai hari ke 18 kebuntingan.
- Perlakuan 3 : pemaparan asap rokok dan diberi kefir susu sapi dosis 10ml/kgBB dimulai hari ke 5 kebuntingan sampai hari ke 18 kebuntingan



Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Data Kadar MDA Plasenta Tikus

Keterangan : Rata-rata Kadar MDA plasenta tikus setelah diberikan paparan asap rokok dan pemberian kefir susu sapi (ng/100mg)

Dari tabel 5.1 dan gambar 5.1 diketahui bahwa pada kelompok kontrol negatif (-) didapatkan rata-rata kadar MDA plasenta sebesar 0,24 ng/100mg. Pada kelompok kontrol positif (+) didapatkan rata-rata kadar MDA plasenta sebesar 0,90 ng/100mg. Pada kelompok Perlakuan 1 diperoleh rata-rata kadar MDA plasenta sebesar 0,58 ng/100mg. Rata-rata kadar MDA plasenta pada kelompok perlakuan 2 ialah 0,45 ng/100mg. Sedangkan pada kelompok perlakuan 3 diperoleh rata-rata kadar MDA plasenta sebesar 0,46 ng/100mg

5.2 Analisis Data

Analisa data yang digunakan terhadap kadar MDA plasenta tikus tiap kelompok adalah dengan uji *One-way Anova* karena data yang digunakan lebih dari 2 kelompok data dan tidak berpasangan. Sebelum dilakukan uji *One-way*

Anova dilakukan terlebih dahulu uji normalitas dan homogenitas data yang merupakan syarat dari dapat digunakan uji *One-way Anova* pada kelompok. Sebaran data yang normal diketahui dengan uji normalitas data (Uji *Saphiro-Wilk*). Sedangkan varian data yang sama dapat diketahui dengan uji homogenitas varian. Adapun uji normalitas data (lampiran 9) didapatkan bahwa data dari semua kelompok memiliki sebaran normal (uji *Saphiro-Wilk*, $p > 0,05$). Sedangkan uji homogenitas varian menghasilkan data dengan varian yang sama ($p > 0,05$) dengan nilai $p = 0,080$. Berdasarkan hal tersebut maka uji *One-way Anova* dapat digunakan pada analisa data.

Berdasarkan hasil pengujian *One-way Anova* (lampiran 9) diperoleh nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Dengan demikian hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA plasenta minimal antara dua kelompok berbeda. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan, maka dilakukan uji Post Hoc dari hasil uji *One-way Anova*, yaitu uji *Tukey-HSD*.

Tabel 5.2 Hasil Uji Tukey-HSD

<i>p-value</i>	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
K(-)		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K(+)			0,000*	0,000*	0,000*
P1				0,008*	0,013*
P2					0,826
P3					

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

Berdasarkan **tabel 5.2** yang merupakan hasil dari uji *Tukey HSD* didapatkan bahwa kelompok yang dipapar asap rokok saja tanpa diberi kefir susu sapi (kontrol positif) memiliki kadar MDA plasenta yang lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok yang tidak dipapar asap rokok (kontrol negatif) ($p = 0,000$) ($p < 0,05$).

Kelompok perlakuan 1 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif menunjukkan rata-rata kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Sama halnya dengan rata-rata kadar MDA plasenta pada kelompok perlakuan 2 dan 3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif juga lebih rendah secara bermakna ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Namun, rata-rata kadar MDA plasenta kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif masih menunjukkan hasil yang lebih tinggi secara bermakna ($p = 0,000$) ($p < 0,05$).

Kelompok perlakuan 1 jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 menunjukkan rata-rata kadar MDA plasenta yang lebih tinggi secara signifikan ($p = 0,008$) ($p < 0,05$). Sama halnya dengan rata-rata kadar MDA plasenta pada kelompok perlakuan 1 jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 3 juga lebih tinggi secara bermakna ($p = 0,013$) ($p < 0,05$). Sedangkan kelompok yang tidak memiliki perbedaan rata-rata kadar MDA plasenta yang bermakna adalah antara kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3 ($p = 0,826$) ($p > 0,05$).

Untuk mengetahui kekuatan hubungan antara dosis kefir susu sapi dengan kadar MDA plasenta, maka dilakukan uji korelasi *Pearson*. Dari hasil perhitungan statistika menggunakan korelasi *Perason* (lampiran 11) didapatkan hasil korelasi = (-0.857) menunjukkan hubungan yang sangat kuat antara pemberian kefir susu sapi dengan penurunan kadar MDA plasenta secara signifikan ($p = 0.000$) ($p < 0,05$). Arah korelasi bernilai negatif, artinya semakin tinggi dosis kefir susu sapi yang diberikan maka semakin rendah kadar MDA plasenta. Sedangkan untuk mengetahui persentase kadar MDA plasenta yang dipengaruhi oleh kefir susu sapi, maka digunakan uji regresi. Berdasarkan uji statistika menggunakan regresi linear, didapatkan hasil (*r square*) = 0.734 yang

menunjukkan bahwa kefir susu sapi berpengaruh terhadap kadar MDA plasenta sebesar 73,4%.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian kefir susu sapi dalam mencegah peningkatan kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada plasenta tikus bunting akibat pemaparan asap rokok. Asap rokok akan menginduksi tubuh untuk memproduksi radikal bebas yang dapat mengakibatkan terjadinya stress oksidatif ditandai dengan meningkatnya kadar MDA. Pemberian kefir susu sapi pada tikus bunting yang dipapar asap rokok digunakan untuk mengetahui efek proteksi antioksidan dalam kefir susu sapi terhadap radikal bebas dalam asap rokok.

Penelitian ini memiliki 5 kelompok sampel dengan pembagian kelompok kontrol dan perlakuan yang telah diukur pada masing-masing kelompoknya. Pada kelompok kontrol negatif (-), yang merupakan kelompok tikus bunting tanpa pemaparan asap rokok dan tanpa pemberian kefir susu sapi, diperoleh hasil rata-rata kadar MDA plasenta sebesar 0,24 ng/100mg. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kehamilan merupakan kondisi fisiologis, akan tetapi kehamilan dapat meningkatkan kebutuhan oksigen dan metabolisme sehingga dapat menyebabkan produksi radikal bebas dan peroksidasi lemak berlebih (Bizon *et al.*, 2011).

Kadar rata-rata MDA plasenta pada kelompok kontrol positif (+), yang merupakan kelompok tikus bunting dengan pemaparan asap rokok dan tanpa pemberian kefir susu sapi, yaitu sebesar 0,90 ng/100mg. Kadar MDA kontrol

positif ini memiliki perbedaan yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kadar rata-rata kelompok kontrol negatif (-) ($p = 0.000$) ($p < 0.05$). Peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol positif ini berkaitan dengan perlakuan yang diberikan yaitu dengan pemaparan asap rokok.

Asap rokok terdiri dari bahan kimia berbahaya yang meningkatkan radikal bebas di dalam tubuh yang akan ditransfer melalui plasenta karena senyawa dalam asap rokok dapat menembus barrier plasenta. Proses tersebut akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) berlebih, yang merupakan oksidan utama dalam tubuh dan sangat potensial menyebabkan kerusakan sel (Valavanidis *et al.*, 2009; Agarwal *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014). *Reactive Oxygen Species* diketahui dapat menginduksi peroksidasi membran lipid sehingga menimbulkan kerusakan yang akan menyebabkan perubahan struktur biologis kadar cairan membran, serta dapat menonaktifkan ikatan membran dengan reseptor atau enzim yang dapat mengganggu fungsi normal sel (Dalle-Donne *et al.*, 2006; Aydogan *et al.*, 2013).

Tingginya kadar MDA merupakan indikasi tingginya kerusakan membran sel dan peroksidasi lipid (Kunia *et al.*, 2011). Peroksidasi lipid diinduksi efek peroksidan dari logam transisi. Reaksi antara ion logam, H_2O_2 dan hiperoksida terjadi di sitosol dan membran sel, yang merupakan target utama kerusakan oksidatif. Logam transisi menginisiasi peroksidasi lipid dengan cara mengikat molekul fosfolipid bermuatan negatif dan mengubah sifat fisiknya sehingga menyebabkan inisiasi dan propagasi peroksidasi lipid (Repetto *et al.*, 2010; Repetto dan Boveris, 2012). *Malondialdehyde* merupakan produk utama metabolit peroksidasi lipid (Repetto *et al.*, 2012).

Dengan adanya radikal bebas yang berasal dari paparan asap rokok yang dapat menembus barrier plasenta, maka akan terjadi proses peroksidasi lipid pada plasenta yang membentuk produk akhir berupa senyawa MDA di plasenta. Jumlah radikal bebas berlebih mengakibatkan peningkatan proses peroksidasi lipid yang searah dengan peningkatan kadar MDA plasenta (Murray, 2009). *Malondialdehyde* bersifat jauh lebih stabil dan bisa berdifusi ke luar sel lalu menyerang targetnya yang jauh dari tempat diproduksi. Aldehid bersifat reaktif dengan molekul biologis seperti, protein, DNA dan fosfolipid (Repetto *et al.*, 2012).

Dalam kondisi fisiologis, kadar aldehid rendah, tapi ketika kadarnya tinggi akan mengakibatkan berbagai keadaan patologis. Aldehid yang reaktif terhadap DNA akan merusak DNA dengan cara berikatan langsung dengan basa nitrogen DNA. *Malondialdehyde* telah terbukti menyebabkan banyak modifikasi basa nitrogen DNA, menyebabkan lesi promutagenik yang berkontribusi terhadap terjadinya mutasi dan efek karsinogenik yang berhubungan dengan stress oksidatif sebagai pemicu peroksidasi lipid (Repetto *et al.*, 2012).

MDA akan berikatan dengan protein, menghancurkan integritas membran sel, merusak aktivitas transport protein, bersifat autoantibodi dan akhirnya memicu kerusakan sel trofoblast pada plasenta (Dalle Donne *et al.*, 2006). Paparan asap rokok dalam kehamilan tidak hanya menyebabkan gangguan pertumbuhan janin atau berat badan lahir rendah, akan tetapi juga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan setelah lahir (Rogers, 2009; Meyer *et al.*, 2009). Abortus spontan dan komplikasi pada plasenta juga meningkat karena paparan asap rokok selama kehamilan. Hal ini disebabkan karena plasenta dan ketuban mengalami percepatan degenerasi (Sinclair, 2009).

Selain itu, kehamilan merupakan keadaan fisiologis yang disertai dengan tingginya kebutuhan metabolisme dan peningkatan kebutuhan oksigen, hal ini dapat menyebabkan produksi ROS secara berlebih (Chelchowska *et al.*, 2011). Dari hasil pengukuran kadar MDA plasenta pada kelompok kontrol positif (+) menunjukkan peningkatan kadar MDA secara signifikan, hal ini membuktikan bahwa pemaparan asap rokok sejak kebuntingan hari ke 5 hingga hari ke 18 dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh tikus bunting tersebut.

Radikal bebas dalam asap rokok akan menghasilkan ROS berlebih, yang merupakan oksidan utama dalam tubuh. Ketika ROS berlebih, antioksidan dalam tubuh akan menurun dan terjadi ketidakseimbangan akibat tingginya kadar oksidan yang tidak dapat dikompensasi oleh tubuh. Ketika radikal bebas berlebih yang disertai dengan penurunan antioksidan maka akan terjadi stress oksidatif. Pada kondisi normal, ROS akan ditanggulangi oleh antioksidan dalam tubuh seperti SOD (*Superoxide Dismutase*), katalase, GSH (*Glutathione Peroxidase*), atau antioksidan luar seperti vitamin C dan vitamin E (Mazzone *et al.*, 2010).

Pada kelompok perlakuan 1, kelompok dengan pemaparan asap rokok serta pemberian kefir susu sapi dengan dosis 2,5 ml/kgBB/hari, didapatkan kadar rata-rata MDA plasenta sebesar 0,58 ng/100mg. Hal ini menunjukkan bahwa dengan dosis 2,5ml/kgBB/hari hasil rata-rata kadar MDA menjadi lebih rendah daripada kelompok yang hanya diberi paparan asap rokok saja (kontrol positif). Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0.000$) ($p < 0.05$). Namun, dosis pada perlakuan 1 belum bisa mengembalikan kadar MDA plasenta ke kondisi normal (kontrol negatif).

Pada kelompok perlakuan 2, kelompok dengan pemaparan asap rokok serta pemberian kefir susu sapi dengan dosis 5ml/kgBB/hari, didapatkan kadar

rata-rata MDA plasenta sebesar 0,45 ng/100mg. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (+) maka terdapat perbedaan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara bermakna ($p = 0.000$) ($p < 0.05$). Jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 juga terdapat perbedaan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara bermakna ($p = 0.008$) ($p < 0.05$). Namun dosis pada perlakuan 2 belum bisa mengembalikan kadar MDA plasenta ke kondisi normal (kontrol negatif).

Pada kelompok perlakuan 3, kelompok dengan paparan asap rokok serta pemberian kefir susu sapi dengan dosis 10ml/kgBB/hari, didapatkan kadar rata-rata MDA plasenta sebesar 0,46 ng/100mg. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (+) maka terdapat perbedaan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan ($p = 0.000$) ($p < 0.05$). Jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 juga terdapat perbedaan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan ($p = 0.0013$) ($p < 0.05$). Namun, jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 tidak terdapat perbedaan kadar MDA plasenta secara signifikan ($p = 0.826$) ($p > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa dosis perlakuan 2 lebih efisien dibandingkan dengan dosis perlakuan 3 karena dengan menggunakan dosis 5ml/kgBB/hari sudah dapat memberikan hasil rata-rata kadar MDA yang hampir sama dengan kelompok yang diberikan dosis 10 ml/kgBB/hari. Namun, dosis pada perlakuan 3 belum bisa mengembalikan kadar MDA plasenta ke kondisi normal (kontrol negatif). Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan, seperti pemberian asap rokok yang masih berjalan bersamaan dengan pemberian kefir susu sapi dan perlunya pemberian dosis kefir susu sapi yang lebih tinggi untuk menghasilkan kadar MDA plasenta yang normal. Selain itu, peneliti tidak dapat mengkondisikan faktor lain yang dapat

berpengaruh terhadap peningkatan kadar MDA plasenta seperti respon stress dari hewan coba. Kondisi stress pada tikus akan meningkatkan radikal bebas yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA (Suarsana *et al.*, 2013). Metabolisme tubuh yang berbeda dari setiap hewan coba akan menghasilkan respon stress yang berbeda akibat perlakuan yang diberikan selama penelitian.

Berdasarkan hasil rata-rata kadar MDA plasenta, didapatkan bahwa dengan pemberian dosis 5 ml/kgBB/hari sudah dapat menghasilkan kadar MDA plasenta yang lebih rendah secara signifikan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Wong dan Kitts (2003) yang menyebutkan bahwa protein dalam kefir susu sapi berpotensi sebagai antioksidan. Ahmed *et al.* (2013) juga menyebutkan bahwa kefir susu sapi memiliki kumpulan komponen dengan aktivitas antioksidan yang tinggi yakni sebesar 88,6% dalam menghambat peroksidasi lipid. Kefir memiliki kemampuan antioksidan yang sama dengan vitamin E dalam mencegah kerusakan oksidatif akibat CCl₄ (karbon tetraklorida) pada hewan percobaan.

Vitamin E merupakan baris pertama pertahanan terhadap proses peroksidasi asam-asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat dalam fosfolipid membran seluler dan subseluler. Fosfolipid pada mitokondria, retikulum endoplasmik serta membran plasma mempunyai afinitas terhadap α -tokoferol, dan vitamin E terkonsentrasi pada tempat-tempat ini. Tokoferol bertindak sebagai antioksidan dengan memutuskan berbagai reaksi rantai radikal-bebas sebagai akibat kemampuannya untuk memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi. Radikal bebas fenoksi yang terbentuk kemudian bereaksi dengan radikal bebas peroksil selanjutnya. Dengan demikian, α -tokoferol tidak mudah

terikat dalam reaksi oksidasi yang reversibel, cincin kromana dan rantai samping akan teroksidasi menjadi produk non-radikal bebas. Produk oksidasi ini mengalami konjugasi dengan asam glukuronat lewat gugus 2-hidroksil dan diekskresikan ke dalam getah empedu. Kerja antioksidan dalam tokoferol efektif pada konsentrasi oksigen yang tinggi (Murray *et al.*, 1995). Berdasarkan penelitian Ahmed *et al.* (2013), kefir telah terbukti memiliki kemampuan antioksidan yang sama dengan vitamin E dimana aktivitas antioksidan kefir lebih efektif dibandingkan vitamin E.

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Judiono *et al.* (2011) menunjukkan bahwa pemberian susu kefir secara signifikan menurunkan kadar MDA darah dan meningkatkan kapasitas antioksidan dalam tubuh. Aktivitas antioksidan dalam kefir secara tidak langsung melalui mekanisme menghambat oksidasi, mengurangi radikal hidroksil, superoksida dan peroksida. Aktivitas antioksidan akan memberikan atom hidrogen dari NADP (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) yang nantinya akan mengurangi keberadaan radikal bebas. Efek antioksidan susu kefir secara langsung melalui mekanisme penurunan proses peroksidasi sehingga dapat menurunkan kadar MDA darah. Dengan demikian berdasarkan kajian-kajian teoritik dan statistik di atas maka hipotesa penelitian yang menyebutkan bahwa pemberian kefir susu sapi dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta tikus **terbukti**.

Penurunan kadar MDA plasenta tidak hanya dipengaruhi oleh pemberian kefir susu sapi (eksogen). Melalui uji regresi didapatkan 73,4% penurunan kadar MDA plasenta dipengaruhi oleh pemberian kefir susu sapi (eksogen). Sedangkan 26,6% dipengaruhi oleh faktor lain seperti adanya aktivitas proteksi antioksidan dari dalam tubuh seperti SOD, katalase, glutathion peroksida (GSH), serta protein

glutation. Hasil korelasi dengan nilai sebesar (-0,857) menunjukkan hubungan yang sangat kuat antara pemberian kefir susu sapi dengan kadar MDA. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis kefir susu sapi yang diberikan maka kadar MDA plasenta akan semakin rendah. Walaupun demikian, penelitian ini masih terbukti hanya pada hewan coba. Pemanfaatan kefir susu sapi secara klinis terhadap ibu hamil dalam mencegah peningkatan kadar MDA plasenta masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah proses pengawinan tikus menggunakan tanda *vaginal plaque* sebagai salah satu tanda kebuntingan. Namun, tanda ini tidak menjamin tikus akan 100% mengalami kebuntingan. Oleh karena itu, diperlukan replikasi sampel lebih banyak untuk menyiasati ketidakpastian kebuntingan hewan coba. Selain itu, peneliti tidak dapat mengendalikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian seperti perubahan kandungan kefir susu sapi dari hari ke hari.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Kefir susu sapi dapat mencegah peningkatan kadar (*Malondialdehyde*) MDA plasenta pada tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar asap rokok.

7.2 Saran

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

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan pemberian dosis kefir susu sapi yang berbeda dengan rentang dosis yang lebih kecil dari dosis 3 yaitu 10 ml/kgBB/hari untuk mengetahui dosis optimal yang dapat mencegah peningkatan kadar MDA plasenta.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan penambahan kelompok yang hanya diberikan kefir susu sapi saja tanpa pemaparan asap rokok untuk mengetahui pengaruh kefir susu sapi terhadap kadar MDA plasenta.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A, Anamar A, Beena P., Amani S., dan Sajal G. 2012. The Effects of Oxidative Stress on Female Reproduction: A Review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(49).
- Ahmed Z., Yanping W., Asif A., Salman T., Mehrun N., Hajra A., *et al.* 2013. Kefir and Health: A Contemporary Perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53: 422-434.
- Astutik, S.M. 2013. Determination of saponin compound from anredera cordifolia (ten.) steenis plant (binahong) to potential treatment for several diseases. *Journal of Agricultural Science*, 3(4).
- Aycicek A., Mustafa V., dan Koc A.2010. Maternal Actove or Passive Smoking Causes Oxidative Stress in Placental Tissue. *Eur J Pediatr*, 170: 645-651.
- Aydogan U, Emre D, Cihagir M E, Eyse E.2013.Effects of Smoking During Pregnancy on DNA Damage and ROS Level Consequences in Maternal And Newborns' Blood. *Arh Hig Rada Toksikol*, 84.
- Bizon A., Milnerowicz N, Zalewska, Zimmer and Milnerowicz H.2011.Changes in Pro/Antioxidant Balance in Smoking and Non Smoking Pregnant Women With Intrauterine Growth Restriction. *Reproductive Toxicology*, 32: 360-367.
- Camandola S., Poli G. dan Mattson M.2000.The Lipid Peroxidation Product 4-hydroxy-2,3- nonenal Inshibits Constitutive and Inducible Activity of Nuclear Factor in Neurons. *Molecular Brain Research*, 85: 53-60.
- Chelchowska M, Ambroszkiewicz, Gajewska, Laskowska and Leibschang. 2011.The Effect of Tobacco Smoking During Pregnancy on Plasma Oxidant and Antioxidant Status in Mother and Newborn. *European Journal of Obstetric and Gynecology and Reproductive Biology*, 155 : 132-136.
- Dalle Donne, Rossi R, Colombo.2006.Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. *Am Assoc Clinical Chemistry*, 52(4).
- Del Rio LA, Luisa M, Fransisco J, Jose, Juan.2006.Reactive Oxygen Species and Reactive Nitrogen Species in Peroxisomes.Production, Scavenging, and Role in Cell Signaling. *Plant Physiol*, 141: 330-335.
- Eberhardt Manfred K,2001.Reactive Oxygen Metabolites. 2 nd .Ed. CRC Press, Washington DC,174-185.

- World Health Organization, 1999. *Geneva: International Programme on Chemical Safety*. World Health Organization.
- Esterbauer H., Schaur J., dan Zollner H. 1991. Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynoneal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radical in Biology and Medicine*, 11: 81-128.
- Esterbauer, H. 1996. Estimation of Peroxidative Damage: A Critical Review. *Pathologie Biologie*, 44: 25-28.
- Fahmy H.A. dan Amel FM. Gastroprotective 2015. Effect of Kefir on Ulcer Induced in Irradiated Rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 144: 85-93.
- Ferlay J., Shin HR., Bray F., Forman D., Mathers C., Parkins DM. 2008. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base. *International Agency for Research on Cancer*, 10.
- Gamagita LP. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Terhadap Berat Badan Bayi Baru Lahir (BBL) Tikus Putih Strain Wistar (Rattus norvegicus) Bunting yang Terpapar Asap Rokok*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Goniewicz ML, Czogala J, Kosmider L, Koszowski B, Zielinska-Danch W, Sobczak A. 2009. Exposure to Carbon Monoxide from Second-Hand Tobacco Smoke in Polish Pub. *Cent Eur J Public Health*, 7(4).
- Gupta, S., Agarwal, A., Banerjee, J., Alvares, J. 2007. The Role of Oxidative Stress in Spontaneous Abortion and Recurrent Pregnancy Loss: A Systematic Review. *Obstet Gynecol Survey*, 65 (5).
- Hedrich H.J. 2006. Taxonomy and Stock and Strains. *J. Lab Rat*, 71-92.
- Hui YH., Lisbeth MG., Ase SH., Jytte J., Wai KN., Peggy SS., et al, 2004. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Hui, YH. 2006. *Handbook of Food Science Technology and Engineering Volume 2*. USA: CRC Press.
- Ide, Pangkalan, 2008. *Health Secret of Kefir: Menguak Keajaiban Susu Asam untuk Penyembuhan Berbagai Penyakit*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Jauniaux and Graham. 2007. Morphological and Biological Effects of Maternal Exposure to Tobacco Smoke on The Feto-Placental Unit. *Early Human Development*, 83: 699-706.

- Jauniaux, E., Poston, L. and Burton, G.J.2006.Placental-Related Diseases of Pregnancy: Involvement of Oxidative Stress and Implications in Human Evolution. *Hum Reprod*, 12(6).
- Judiono D and Hadisaputro S.2011.Effects of Oral Clear Kefir Probiotics on Glycemic Status, Lipid Peroxidation, Antioxidative Properties of Streptozotocin Induced Hyperglycemia Wistar Rats.*Gizi Indonesia*, 34(1).
- Kaufman MH,1992. *The Atlas of Mouse Development*.London: Academic Press Limited.
- Kunia HP, Permatasari N, dan Subandi. 2011. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam terhadap MDA dan Sel Spermatogonium Tikus yang dipapar Asap Rokok Kretek Subakut.*Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 26(3).
- Kusuma, P dan Rizkia, A. 2012. Pengaruh Merokok Terhadap Kesehatan Gigi dan Rongga Mulut. *J. of Majalah Ilmiah Sultan Agung*, 49(124).
- Le Houezec J. 2003. Role of Nicotine Pharmacokinetics in Nicotine Addiction and Nicotine Replacement Therapy: A reiew.*The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 7(9).
- Liu J.R., MJ Chen, Lin CW. 2005. Antimutagenic and Antioxidant Properties of Milk Kefir and Soymilk Kefir.*J. Agric Food Chem*, 53(7).
- Mahardika,2012.*Pengaruh Paparan Emisi Kendaraan Bermotor Terhadap Frekuensi Pembentukan Mikronukleus di Mukosa Rongga Mulut pada Mekanik Bengkel Motor*. Jakarta: Media Medika Muda.
- Manuaba I.A., Ida B.M., Ida B M, 2014. *Ilmu Kebidanan: Penyakit Kandungan dan Keluarga Berencana Ed 2*. Jakarta: EGC.
- Marice dan Sulistyowati.2011. Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda.*Jurnal Veteriner*, 12(1).
- Mazzone P, William, Mohammed, Vikram, Damir and Luca .2010. Pathophysiological Impact of Cigarette Smoke Toxicity in An Underappreciated Area.*Int. J. Res. Public Health*, 7: 4111-4128.
- Meyer S., Raisig M., Gortner L., Ong MF., Bucheler M., Tutdibi E. 2009.In Utero Tobacco Exposure: The Effects of Heavy and Very Heavy Smoking on Rate of SGA Infants in The Federal State of Saarland.Germany.*Eur J Obstet Gynecol Rep Biol*, 146:37-40.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes P. & Rodwell, V. W, 1995. Biokimia harper (22 ed.). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W, 2009. Biokimia harper (27 ed.). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Notoadmodjo, S, 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Patil S. B, Kodliwadmath M. V, and Sheela M. K. 2007. Study of Oxidative Stress and Enzymatic Antioxidant in Normal Pregnancy. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22(1).
- Patil AB, Kale AB, Singhal SS, Khan TA. 2011. Study of malondialdehyde as an indicator of oxidative stress and its modulation by N-acetylcysteine in chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 5(1): 48-51.
- Patrick L. 2006. Lead Toxicity Part II : The Role Of Free Radical Damage and The Use Of Antioxidant in The Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Altern Med Rev*, 11(2).
- Pawitan JA, Suryono IA. 2006. Sensitivity and Specificity of The Micronucleus Test in Hypotonic-Swollen Mononuclear Leukocytes Compared to The Micronucleus Test in Binucleated Lymphocytes to Assess Chromosomal Breaks. *Anal Quant Cytol Histol*, 28(3).
- Pena Ramos and Xiong. 2001. Antioxidative Activity of Whey Protein Hydrolysates in A Liposomal System. *J. Dairy Sci*, 84(2).
- Repetto, M., Ferrarotti N.F. and Boveris, A.2010. Oxidative Damage: The Biochemical Ions on Iron-Dependent Lipid Peroxidation. *Archives of Toxicology*, 84: 255-262.
- Repetto, M. dan Boveris A.2012. Transition Metals: Bioinorganic and Redox Reactions in Biological Systems. In : *Transition Metals : Uses and Characteristics*. New York: Nova Science Publishers Inc.
- Repetto M., Jimena S., dan Alberto B,2012. Lipid Peroxidation : Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. In Catala A (Ed), *Lipid Peroxidation*, In Tech Prepress, Croatia, p. 3-30.
- Ridwan, E,2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *J Indon Med Assoc*. 63(3).
- Rogers JM. 2009. Tobacco and Pregnancy. *Reprod Toxicol*, 28:152-160.
- Samsuria,2009. *Efek Asap Rokok pada Tikus Rattus novergicus Bunting Terhadap Tampilan Fisiologis Induk dan Anaknya Setelah Dilahirkan*. Tesis. Tidak Diterbitkan, Institut Pertanian Bogor.
- Sitepoe M,2000. *Kekhususan Rokok Indonesia*. Jakarta: PT Gramedia.
- SEATCA,2016. *The Tobacco Atlas ASEAN Region 3rd ed*. Thailand: SEATCA.
- Sinclair,2009. *Buku Saku Kebidanan alih bahasa Indonesia*. Jakarta: EGC.

- Suarsana, IN, Wresdiyati T dan Suprayogi A. 2013. Respon Stress Oksidatif dan Pemberian Isoflavon Terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV*, 18(2): 146-152.
- Suryawinata Z dan Hariyanto Z, 2003. *Translation: Bahasa Teori dan Penuntun Praktis Menerjemah*. Yogyakarta: Kanisius
- Uchida. 2003. K.4-Hydroxy-2-nonenal: A Product and Mediator of Oxidative Stress. *Progress in Lipid Research*, 42: 318-343.
- Valavanidis A, Thomais and Konstantinos. 2009. Tobacco Smoke: Involvement of Reactive Oxygen Species and Stable Free Radicals in Mechanism of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effect With Other Respirable Particles. *Environmental Research and Public Health*, 6 : 445-462.
- Wang N., Tikellis G., Sun C., Pezic A., Wang L., Wells J. *et al.* 2014. The Effect of Maternal Prenatal Smoking and Alcohol Consumption on The Placenta-to-Birth Weight Ratio. *Placenta*, 35: 437-441.
- Watson, R and Mark W, 2001. *Environmental Tobacco Smoke*. Washington: CRC Press.
- Widodo, W, 2002. *Bioteknologi Fermentasi Susu*. Pusat Pengembangan Bioteknologi. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Widodo MA, 2006. *Pajanan Asap Rokok Kretek pada Tikus Putih sebagai Model untuk Manusia*. Disertasi. Tidak Diterbitkan. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wolfenshon S and Lloyd M, 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare 4th Ed*. New Jersey: Wiley Blackwell.
- Wong P.Y.Y. and Kitts D.D. 2003. Chemistry of Buttermilk Solid Antioxidant Activity. *J. Dairy Sci*, 86(2).
- Yustika, A.R., Aulanni'am, dan Sasangka P. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi Pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A. *Kimia Student Journal*, 1(2).
- Zdravkovic T., Genbacev O., McMaster M.T., Fisher S.J. 2005. The Adverse Effects of Maternal Smoking on The Human Placenta : A Review. *Placenta*, 25.