

**PENGARUH PEMBERIAN KEFIR SUSU SAPI TERHADAP BERAT  
PLASENTA TIKUS (*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING  
YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



**Oleh:**

**Putri Rahmadayanti Subiyanto**

**145070601111047**

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**PENGARUH PEMBERIAN KEFIR SUSU SAPI TERHADAP BERAT  
PLASENTA TIKUS (*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING YANG  
DIPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh:  
Putri Rahmadayanti Subiyanto  
NIM 145070601111047

Telah diuji pada  
Hari : Jumat  
Tanggal : 11 Mei 2018  
dan dinyatakan lulus oleh:

**Penguji-I,**

**Dr. rer. nat. Tri Yudani Mardining Raras, MApp, Sc**  
**NIP. 196511051993032001**

**Pembimbing-I/Penguji-II,**

**Pembimbing-II/Penguji-III,**

**dr. Nia Kurnianingsih, M. Biomed**  
**NIK. 2011068404072001**

**dr. Anin Indriani, Sp. OG**  
**NIP. 2016098007042001**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi S1 Kebidanan**

**Linda Ratna Wati, SST, M.Kes**  
**NIP. 198409132014042001**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

### KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala kekuatan dan kemudahan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan penulisan Tugas Akhir yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Kefir Susu Sapi Terhadap Berat Plasenta Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Bunting yang Dipapar Asap Rokok”** untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar sarjana S1 Kebidanan.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. dr. Nia Kurnianingsih, M. Biomed selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran serta semangat dalam proses membimbing Tugas Akhir sehingga tulisan ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. dr. Anin Indriani, SpOG selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran serta semangat dalam proses membimbing Tugas Akhir sehingga tulisan ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. Dr. rer. nat. Tri Yudani Mardining Raras, MApp, Sc 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.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.
7. Yang tercinta kedua orangtua saya yang telah membantu memberi dukungan serta motivasi dalam proses penyelesaian penulisan ini serta tiada hentinya menyelipkan doa di setiap sholat maupun sujudnya sehingga urusan saya dapat terselesaikan dengan baik dan lancar.
8. Seluruh Mahasiswa Kebidanan angkatan 2014 yang memberi saya semangat dalam mengambil langkah dalam proses menyelesaikan Tugas Akhir ini, dan rekan penelitian saya (May Putri Arinda, Winda Resmytha, Lisa Diana Putri, Frista Eva Rosemarr, Dessy Nur Safitri) yang saling memberi dukungan dan motivasi dalam mengerjakan proposal ini.

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, 11 Mei 2018

penulis

## ABSTRAK

Subiyanto, Putri, Rahmadayanti. 2018. ***Pengaruh Pemberian Kefir Susu Sapi Terhadap Berat Plasenta Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Yang Dipapar Asap Rokok***. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Nia Kurnianingsih M.Biomed, (2) dr Anin Indriani SpOG.

Komponen asap rokok yang menyebabkan disfungsi sel plasenta salah satunya radikal bebas. Sifat dari radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Hal ini terjadi karena ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan yang dapat menyebabkan kerusakan sel fungsi plasenta ikut terganggu. Antioksidan pada kefir susu sapi berperan mencegah kerusakan dengan menangkap dan menetralkan radikal bebas sehingga terjadi pemecahan rantai radikal bebas. Kefir terbukti mampu mencegah terjadinya kerusakan oksidatif akibat *Carbon Tetrachloride* dan menurunkan *PUFA* akibat radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok. Penelitian ini menggunakan studi eksperimental dengan *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih yang dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu (K+) dipapar asap rokok, (K-) tanpa asap rokok dan kefir susu sapi, (P1) asap rokok dan kefir 2,5 ml/200gBB/hari, (P2) asap rokok dan kefir 5 ml/200gBB/hari, dan (P3) asap rokok dan kefir 10 ml/200gBB/hari. Pemberian kefir susu sapi dan asap rokok dilakukan selama 14 hari, dari hari ke-5 sampai ke-18 usia kebuntingan tikus dan pembedahan dilakukan pada hari ke-19. Hasil uji *one way Anova* yaitu kelompok K- dengan kelompok K+ memiliki perbedaan secara signifikan dengan nilai  $p=0,015$  ( $p<0,05$ ), lalu kelompok K+ dengan kelompok P3 juga menunjukkan perbedaan signifikan yaitu nilai  $p=0,003$  ( $p<0,05$ ). Maka dapat disimpulkan pemberian kefir susu sapi pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang dipapar asap rokok dapat mempengaruhi kenaikan berat plasenta.

**Kata kunci:** Kefir Susu Sapi, Asap Rokok, Berat Plasenta Tikus

## ABSTRACT

Subiyanto, Putri, Rahmadayanti. 2018. ***The Influence of Administration Cow Milk Kefirs on Placenta Weight (Rattus Norvegicus) Wistar Strain Exposed to Cigarette Smokes***. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University, Malang. Supervisor: (1) dr. Nia Kurnianingsih M.Biomed, (2) dr Anin Indriani SpOG.

Components of cigarette smoke that causes placenta dysfunction is free radicals. The free radicals can cause oxidative stress. This happens because of an imbalance between amount of free radicals and antioxidants can make cellular functional damage to the placenta. Antioxidants in cow milk kefir able to prevent damage by capturing and neutralizing free radicals resulting in free radical chain breaking. Kefir can to prevent oxidative damage caused by Carbon Tetrachloride and reduce PUFA due to free radicals. The purpose of this study was to determine the effect of cow milk kefir on the weight of rat placenta (*Rattus norvegicus*) strain of wistar exposed to smoke. This research uses experimental study with Randomized Post Test Only Control Group Design. This study used 25 white rats divided into 5 groups: (K+) exposed to cigarette smoke, (K-) without cigarette smoke and cow's milk kefir, (P1) exposed smoke and kefir 2.5 /200gBB/day, (P2) smoke and kefir 5 ml/200gBB/day, and (P3) smoke and kefir 10 ml/200gBB/day. Giving of cow milk kefir and cigarette smoke was done for 14 days, starting on the 5th day until the 18th day of pregnancy rat and termination on the 19th. One way Anova test result that is group of (K-) with group (K+) has significant difference with value  $p = 0,015$  ( $p < 0,05$ ), in a group (K+) with group P3 also show significant difference with value  $p = 0,003$  ( $p < 0,05$ ). The conclusion of giving of cow milk kefir in rats (*Rattus norvegicus*) strain wistar exposed to cigarette smoke can affect the increase of placenta weight.

**Keywords:** Cow milk kefir, Cigarette smoke, Placenta weight of rats

**DAFTAR ISI**

Halaman	
Judul .....	i
Halaman Persetujuan .....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak .....	iv
<i>Abstract</i> .....	v
Daftar Isi .....	vi
Daftar Gambar .....	vii
Daftar Singkatan .....	viii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
1.4.1 Manfaat Akademik .....	6
1.4.2 Manfaat Praktis .....	6
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Asap rokok .....	7
2.1.1 Kandungan Asap Rokok .....	7
2.2 Radikal Bebas .....	12
2.3 Stres Oksidatif .....	14
2.4 MDA (Malondialdehid) .....	16
2.5 Antioksidan .....	17
2.6 Kefir Susu Sapi .....	19
2.6.1 Manfaat Kefir .....	21
2.6.1.1 Kefir Sebagai Antikarsinogenik .....	21
2.6.1.2 Kefir Sebagai Antimikroba .....	22
2.6.1.3 Kefir Dalam Menurunkan Kolesterol .....	22
2.6.2 Kefir Dalam Kehamilan .....	22
2.7 Tikus Putih .....	23
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep .....	25
3.2 Uraian Kerangka Konsep .....	26



3.3 Hipotesis Penelitian .....	27
--------------------------------	----

#### **BAB 4. METODE PENELITIAN**

4.1 Desain Penelitian .....	28
4.2 Populasi dan Sampel .....	28
4.2.1 Kriteria Inklusi .....	29
4.2.2 Kriteria Eksklusi .....	29
4.2.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba .....	29
4.3 Variabel Penelitian .....	30
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian .....	30
4.5 Bahan Penelitian	
4.5.1 Bahan Pemeliharaan Hewan Coba .....	31
4.5.2 Bahan Perlakuan Hewan Coba .....	31
4.6 Alat Penelitian	
4.6.1 Alat Pemeliharaan Hewan Coba .....	31
4.6.2 Penimbangan Berat Plasenta Hewan Coba .....	32
4.6.3 Alat Pemberian Kefir Susu Sapi Pada Hewan Coba .....	32
4.6.4 Alat untuk Pemaparan Asap Rokok .....	32
4.6.5 Alat untuk Pembedahan dan Pengambilan Bayi Tikus .....	33
4.6.6 Alat untuk Penimbangan Berat Plasenta Tikus .....	33
4.7 Definisi Operasional .....	33
4.8 Prosedur Penelitian .....	35
4.8.1 Cara Kerja .....	35
4.8.1.1 Adaptasi Hewan Coba .....	35
4.8.1.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba .....	35
4.8.1.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba .....	36
4.8.1.4 Penentuan Dosis .....	37
4.8.1.5 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba .....	38
4.8.1.6 Prosedur Pemberian Kefir Susu Sapi .....	38
4.8.1.7 Prosedur Pemaparan Asap Rokok .....	38
4.8.1.8 Pembedahan dan Penimbangan Berat Plasenta Tikus .....	39
4.8.1.9 Alur Penelitian .....	40
4.9 Analisis Data .....	41

#### **BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA**

5.1 Hasil Penelitian .....	43
5.2 Analisis Data .....	44



<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b> .....	48
<b>BAB 7. PENUTUP</b>	
7.1 Kesimpulan .....	52
7.2 Saran.....	52
<b>Daftar Pustaka</b> .....	<b>53</b>



## DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) .....23

Gambar 4.1 Alat *Smooking Pump* .....32

Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Berat Plasenta Tikus ..... 43



**DAFTAR SINGKATAN**

ASEAN = Association of Southeast Asian Nations

NADP = Nikotinamida Adenina Dinukleotida

CO = *Karbonmonoksida*

CCl<sub>4</sub> = *Karbon Tetraklorida*

GATS = *General Agreement Trade in Service*

AKI = Angka Kematian Ibu

HCN = Asam Sianida

ATP = *Adenosina Trifosfat*

DNA = *Deoxyribose Nucleic Acid*

GPx = *Glutathione Peroxidase*

HPx = *Hidrogen Peroksidase*

CAT = *Katalase*

MDA = *Malondialdehida*

ROS = *Reactive Oxygen Species*

SOD = *Superoksida Dismutase*

PUFA = *Poly Unsaturated Fatty Acids*

OH = Radikal hidroksil

COHb = Karboksi Hemoglobin

H<sub>2</sub>O = Dihidroksida



## ABSTRAK

Subiyanto, Putri, Rahmadayanti. 2018. ***Pengaruh Pemberian Kefir Susu Sapi Terhadap Berat Plasenta Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Yang Dipapar Asap Rokok***. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Nia Kurnianingsih M.Biomed, (2) dr Anin Indriani SpOG.

Komponen asap rokok yang menyebabkan disfungsi sel plasenta salah satunya radikal bebas. Sifat dari radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Hal ini terjadi karena ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan yang dapat menyebabkan kerusakan sel fungsi plasenta ikut terganggu. Antioksidan pada kefir susu sapi berperan mencegah kerusakan dengan menangkap dan menetralisasi radikal bebas sehingga terjadi pemecahan rantai radikal bebas. Kefir terbukti mampu mencegah terjadinya kerusakan oksidatif akibat *Carbon Tetrachloride* dan menurunkan *PUFA* akibat radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok. Penelitian ini menggunakan studi eksperimental dengan *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih yang dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu (K+) dipapar asap rokok, (K-) tanpa asap rokok dan kefir susu sapi, (P1) asap rokok dan kefir 2,5 ml/200gBB/hari, (P2) asap rokok dan kefir 5 ml/200gBB/hari, dan (P3) asap rokok dan kefir 10 ml/200gBB/hari. Pemberian kefir susu sapi dan asap rokok dilakukan selama 14 hari, dari hari ke-5 sampai ke-18 usia kebuntingan tikus dan pembedahan dilakukan pada hari ke-19. Hasil uji *one way Anova* yaitu kelompok K- dengan kelompok K+ memiliki perbedaan secara signifikan dengan nilai  $p=0,015$  ( $p<0,05$ ), lalu kelompok K+ dengan kelompok P3 juga menunjukkan perbedaan signifikan yaitu nilai  $p=0,003$  ( $p<0,05$ ). Maka dapat disimpulkan pemberian kefir susu sapi pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang dipapar asap rokok dapat mempengaruhi kenaikan berat plasenta.

**Kata kunci:** Kefir Susu Sapi, Asap Rokok, Berat Plasenta Tikus

**ABSTRACT**

Subiyanto, Putri, Rahmadayanti. 2018. ***The Influence of Administration Cow Milk Kefirs on Placenta Weight (Rattus Norvegicus) Wistar Strain Exposed to Cigarette Smokes***. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University, Malang. Supervisor: (1) dr. Nia Kurnianingsih M.Biomed, (2) dr Anin Indriani SpOG.

Components of cigarette smoke that causes placenta dysfunction is free radicals. The free radicals can cause oxidative stress. This happens because of an imbalance between amount of free radicals and antioxidants can make cellular functional damage to the placenta. Antioxidants in cow milk kefir able to prevent damage by capturing and neutralizing free radicals resulting in free radical chain breaking. Kefir can to prevent oxidative damage caused by Carbon Tetrachloride and reduce PUFA due to free radicals. The purpose of this study was to determine the effect of cow milk kefir on the weight of rat placenta (*Rattus norvegicus*) strain of wistar exposed to smoke. This research uses experimental study with Randomized Post Test Only Control Group Design. This study used 25 white rats divided into 5 groups: (K+) exposed to cigarette smoke, (K-) without cigarette smoke and cow's milk kefir, (P1) exposed smoke and kefir 2.5 /200gBB/day, (P2) smoke and kefir 5 ml/200gBB/day, and (P3) smoke and kefir 10 ml/200gBB/day. Giving of cow milk kefir and cigarette smoke was done for 14 days, starting on the 5th day until the 18th day of pregnancy rat and termination on the 19th. One way Anova test result that is group of (K-) with group (K+) has significant difference with value  $p = 0,015$  ( $p < 0,05$ ), in a group (K+) with group P3 also show significant difference with value  $p = 0,003$  ( $p < 0,05$ ). The conclusion of giving of cow milk kefir in rats (*Rattus norvegicus*) strain wistar exposed to cigarette smoke can affect the increase of placenta weight.

**Keywords:** Cow milk kefir, Cigarette smoke, Placenta weight of rats

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan jumlah perokok terbesar di wilayah negara ASEAN. Jumlah perokok di Indonesia hampir selalu meningkat setiap tahun. Peningkatan jumlah pria yang merokok mencapai 67,4% setiap tahun. Sedangkan peningkatan jumlah perokok wanita di Indonesia mencapai 4,5% dari jumlah penduduk wanita di Indonesia. Data dari GATS (*General Agreement Trade in Service*) pada tahun 2011 menyebutkan bahwa Indonesia salah satu kedalam peringkat ketiga untuk jumlah perokok tertinggi di dunia setelah Cina dan India dengan prevalensi perokok sebanyak 36,1% (Ambarwati, 2014).

Menurut data dari Riskesdas pada tahun 2013, menyatakan bahwa sekitar 85% ibu rumah tangga di Indonesia sering terpapar asap rokok, dengan estimasi delapan orang meninggal akibat perokok aktif, dan satu orang lainnya meninggal akibat terpapar asap rokok dari orang lain. Berdasarkan estimasi perhitungan yang dilakukan dalam menentukan rasio kematian akibat dari terpapar asap rokok didapatkan jumlah kisaran sebanyak 25.000 jiwa di Indonesia (Riskesdas, 2013).

Di dalam asap rokok terkandung sekitar 4000 bahan kimia toksik seperti nikotin, karbon monoksida (CO), asam sianida (HCN), acrolein, acetilen, benzaldehyde, urethane, benzene, methanol, coumarin, etikatehol-4, ortokresol, perilen dan radikal (Aditama, 2006). Kandungan asap rokok yang terhirup oleh

perokok pasif memiliki efek lima kali lebih besar mengandung karbon monoksida dan empat kali lebih tinggi mengandung tar dan nikotin. Paparan asap rokok yang terhirup selama kehamilan sangat mempengaruhi terhadap perkembangan janin, karena kandungan nikotin dan karbon monoksida di dalam asap rokok akan berdampak dalam menghambat distribusi nutrisi ke janin, hal ini berhubungan dengan adanya kerusakan sel endotel dan produksi faktor vasoaktif, yang menyebabkan terjadinya vasokonstriksi sel sehingga dapat meningkatkan resiko kejadian abortus spontan, solusio plasenta, plasenta previa, insufisiensi plasenta, kelahiran prematur, kecacatan pada janin, dan bayi berat lahir rendah (Prawirohardjo, 2009). Asap rokok dapat menurunkan aliran darah ke uterus dan fetus, karena paparan nikotin dan karbon monoksida (CO) dalam asap rokok yang menyebabkan terjadinya pengecilan diameter pembuluh darah plasenta maupun tali pusat bayi, maka hal inilah yang dapat mengurangi aliran darah dari ibu ke janin. Selain itu, dampak yang terjadi akibat paparan asap rokok akan mengakibatkan terganggunya fungsi plasenta dan secara tidak langsung fungsi nutrisi ibu ke janin ikut mengalami gangguan (Manuaba, 2010).

Kandungan radikal bebas yang bersumber dari paparan asap rokok memiliki sifat reaktivitas yang cukup tinggi, karena kecenderungan menarik elektron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal yang disebabkan karena hilangnya atau bertambahnya satu elektron pada molekul lain. Radikal bebas akan merusak molekul yang elektronnya ditarik oleh radikal bebas tersebut sehingga menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel (Britton *et al*, 2007). Radikal bebas yang terhirup akan menjadi zat prooksidan yang beracun dan akan menyebabkan stress oksidatif dan peroksidasi lipid PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acids*) membran sel

sehingga akan menghasilkan zat akhir peroksidasi lipid yang bersifat toksik yaitu MDA (*Malondialdehid*). Radikal hidroksil (OH) menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap protein, DNA, lemak membran yang mengandung lebih dari satu ikatan rangkap pada rantai hidrokarbon (*poly unsaturated*) dan komponen sel lain (Marks *et al*, 2000).

Radikal bebas yang ada di tubuh akibat paparan asap rokok dapat menembus barrier plasenta, sehingga dapat terjadi proses peroksidasi lipid plasenta dengan produk akhir berupa senyawa MDA (Murray *et al*, 2009). Kadar MDA dalam darah bisa dijadikan sebagai penyebab kerusakan oksidatif sekaligus sebagai indikator adanya radikal bebas didalam tubuh (Syaputro, 2009; Wiryowidagdo, 2009).

Ditinjau dari beberapa dampak berbahaya dari asap rokok, wanita hamil perlu memiliki perlindungan khusus dengan membantu mengeliminasi efek radikal bebas akibat paparan asap rokok. Secara fisiologis tubuh mempunyai dua sistem pertahanan utama untuk melawan radikal bebas, yaitu antioksidan yang berupa enzim dan non enzim. Antioksidan enzimatik ini bekerja secara intraseluler yang sebagian besar terdapat pada mitokondria dan sitoplasma. Antioksidan merupakan suatu zat bersifat menghambat, mencegah kerusakan atau kematian sel yang diakibatkan oleh reaksi oksidasi dari paparan asap rokok (Jauniaux and Graham, 2007).

Produk kefir susu sapi termasuk salah satu olahan minuman hasil fermentasi yang diproduksi dari tambahan bibit kefir susu sapi (John and Sirirat, 2015). Kefir diperoleh dari fermentasi susu pasteurisasi menggunakan starter berupa butir atau biji kefir, yaitu butiran-butiran putih atau krem dari kumpulan bakteri, antara lain *streptococcus* sp dan berbagai jenis ragi khamir nonpatogen



(Usmiati, 2007). Susu sapi yang melalui proses fermentasi selama 32 jam menggunakan bibit kefir telah menunjukkan hasil yang signifikan bahwa kefir susu sapi dapat menghambat peroksidasi asam linoleik dibandingkan dengan produk susu sapi (Liu *et al*, 2005). Menurut Otles dan Cagindi (2003), kefir memiliki sangat banyak kandungan mineral, vitamin, asam amino esensial, dan beberapa senyawa lain seperti kalsium, fosfor, magnesium, potassium, sodium, klorida, vitamin A, B2, B6, B12, C, D, E, karoten, thiamin, asam folat, niacin, dan lain-lain. Antioksidan pada kefir susu sapi berperan mencegah kerusakan dengan menangkap dan menetralisasi radikal bebas sehingga terjadi pemecahan rantai radikal bebas. Kefir telah terbukti memiliki kemampuan antioksidan yang menyerupai kandungan antioksidan vitamin E yang berperan sebagai zat dalam mencegah terjadinya kerusakan oksidatif akibat *Carbon Tetrachloride* (CCl<sub>4</sub>) yang dilakukan terhadap hewan percobaan menunjukkan bahwa kemampuan aktivitas antioksidan pada kefir susu lebih efektif dari kemampuan aktivitas antioksidan yang terdapat pada vitamin E. Pemberian kefir susu sapi yang berperan sebagai antioksidan berasal dari kandungan peptida pada susu sapi yang telah melalui proses hasil fermentasi (Ahmed *et al*, 2013).

Studi morfologi menunjukkan mengenai pengaruh paparan asap rokok dari zat radikal bebas memberikan efek terhadap struktur dan fungsi plasenta, serta mengakibatkan terjadinya penurunan vaskularisasi plasenta yang berdampak terhadap terjadinya kekurangan oksigen oleh janin dan menghasilkan terjadinya penurunan berat plasenta ataupun mengalami berat badan lahir rendah (Wang *et al*, 2014).

Maka pemberian kefir susu sapi sebagai antioksidan memungkinkan dapat berpotensi menurunkan proses peroksidasi lemak serta mampu menurunkan

kadar MDA dalam darah yang mengakibatkan kerusakan sel dan terjadinya penurunan berat plasenta. Studi mengenai manfaat mengkonsumsi kefir susu sapi saat kehamilan setelah terpapar asap rokok apakah berpengaruh terhadap berat plasenta masih terbatas, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) bunting yang dipapar asap rokok.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademis

1. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi dan pengetahuan mengenai pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok.
2. Penelitian ini juga diharapkan sebagai rujukan bagi peneliti selanjutnya mengenai pengaruh kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan memberi landasan informasi pemanfaatan kefir susu sapi yang mengandung antioksidan dengan beberapa senyawa aktif didalamnya yang berperan sebagai antioksidan endogen yang kurang didalam tubuh akibat paparan asap rokok pada wanita hamil khususnya maupun di dalam masyarakat pada umumnya.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Asap Rokok

Rokok mengandung lebih dari 4000 bahan zat organik berupa gas maupun partikel yang telah diidentifikasi dari daun tembakau maupun asap rokok. Bahan tersebut umumnya bersifat toksik, karsinogenik selain beberapa bahan kimia yang ada pada asap rokok. Salah satu zat berbahaya yang terkandung pada asap rokok dalam bentuk gas antara lain : hidrogen sianida (HCN), karbon monoksida, oksida nitrogen. Sedangkan substansi toksik dalam bentuk zat kimia yang volatil seperti nitrosamin, formaldehid banyak terdapat dalam asap rokok (Syamsudin, 2014).

##### 2.1.1 Kandungan Asap Rokok

Asap rokok mengandung ribuan bahan kimia beracun dan bahan-bahan yang karsinogenik. Komponen dalam rokok dapat dibedakan dalam dua bentuk yaitu fase gas dan fase tar (fase partikulat). Fase gas adalah berbagai macam gas berbahaya yang dihasilkan oleh asap rokok terdiri dari nitrosamin, nitrosopirolidin, hidrasin, vinil klorida, uretan, formaldehid, hidrogen sianida, akrolein, asetaldehida, nitrogen oksida, amonia piridin, dan karbonmonoksida. Fase tar adalah bahan yang terserap dari penyaringan asap rokok menggunakan *filter cartridge* dengan ukuran pori-pori 0,1  $\mu\text{m}$ . Fase ini terdiri dari bensopirin, dibensakridin, dibensokarbasol, piren, fluoranten, hidrokarbon aromatik, polinuklear, naftalen, nitrosamin yang tidak mudah menguap, nikel, arsen,

nikotin, alkaloid tembakau, fenol dan kresol (Aila *et al.*, 2012). Bahan berbahaya dan racun dalam rokok tidak hanya mengakibatkan gangguan kesehatan pada orang yang perokok aktif, namun juga pada orang-orang disekitarnya yang tidak merokok atau sebagai perokok pasif. Asap yang dikeluarkan pada saat merokok dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu asap utama dan asap samping. Asap utama merupakan bagian asap tembakau yang dihirup langsung oleh perokok, sedangkan asap samping merupakan asap tembakau yang disebarkan ke udara bebas dan dapat dihirup oleh orang lain yang berada diruangan yang sama dan dikenal sebagai perokok pasif.

Dari ribuan jenis bahan kimia yang terdapat dalam rokok, 40 jenis diantaranya bersifat karsinogenik dan telah diidentifikasi antara lain: benzo(a)pyrene, cadmium, nikel, zink, karbon monoksida, cairan pembersih lantai, dan nitrogen oksida, dimana bahan toksis ini banyak terdapat pada asap samping. Karbon monoksida lima kali lipat lebih banyak terdapat pada asap samping, benzo(a)pyrene tiga kali lipat, dan ammonia lima puluh kali lipat jumlahnya dalam asap samping (Mulyono *et al.*, 1995).

Pemaparan secara tidak sengaja terhadap bahan-bahan yang terdapat dalam asap rokok dapat mempengaruhi perkembangan janin wanita hamil yang merokok serta bayi ibu menyusui yang merokok. Salah satu kandungan CO (*Karbonmonoksida*) di dalam asap rokok dapat melewati plasenta secara pasif dan difusi. Kapasitas difusi CO di seluruh plasenta meningkat berdasarkan usia kehamilan dan berat janin karena disebabkan oleh laju aliran darah plasenta dan konsentrasi hemoglobin ibu. Kadar karboksihemoglobin terakumulasi dalam sirkulasi janin yang disebabkan oleh disosiasi CO yang lambat dari hemoglobin ibu. Hipoksia pada jaringan janin terjadi melalui dua mekanisme yaitu

menurunkan difusi oksigen ke dalam sirkulasi janin dan dengan toksisitas langsung saat CO melewati plasenta. Karboksi hemoglobin dalam sirkulasi maternal meningkatkan afinitas ikatan hemoglobin sehingga menggantikan oksigen dari tempat pengikatan hemoglobin sehingga menyebabkan penurunan transportasi oksigen yang melewati plasenta secara signifikan dan janin tidak dapat meningkatkan curah jantung untuk kompensasi penurunan saturasi oksigen meskipun saat CO belum melewati plasenta, janin sudah mengalami hipoksia karena kadar oksigen yang berkurang dalam sirkulasi maternal. Kadar karboksihemoglobin pada janin kira-kira 10-15% lebih tinggi daripada sirkulasi maternal (Roderique *et al.*, 2012).

Beberapa zat dari kandungan asap rokok dapat menembus plasenta dan mencapai fetus, serta dapat mempengaruhi air susu ibu. Akibat yang ditimbulkan oleh pemaparan ini antara lain: anak lahir mati, keguguran, kelahiran bayi secara prematur, berat bayi lahir rendah, dan pertumbuhan anak terganggu (Irnawati, 2007). Berikut beberapa zat utama yang terkandung pada asap rokok :

1. Nikotin

Nikotin atau  $\beta$ -pyridil- $\alpha$ -N-methyl pyrrolidine merupakan senyawa organik spesifik yang terkandung dalam daun tembakau. Senyawa ini dapat menimbulkan efek psikologis berupa ketagihan bagi perokok. Nikotin yang masuk ke dalam darah ibu dapat melewati plasenta dan mempengaruhi beberapa organ tubuh janin. Dampak dari pengaruh zat-zat tersebut adalah pertumbuhan bayi dibawah normal (Irnawati, 2007).

Jumlah nikotin yang terdapat pada asap rokok sebesar 20,9 mg nikotin dan kandungan yang terserap oleh tubuh sebesar kurang lebih 2 mg (Cadwell, 2001). Nikotin merupakan senyawa bersifat toksik yang dapat menyebabkan adanya

ketergantungan psikis. Nikotin merupakan alkaloid alam yang bersifat toksik, sukar menguap, tidak berwarna, dan berbentuk zat cair. Nikotin dapat menurunkan isi protein fibroblas dan dapat merusak sel membran (Natamiharja dan Butar, 2001). Nikotin dapat merangsang keluarnya hormon katekolamin (adrenalin) yang bersifat memacu jantung dan tekanan darah (Sitepoe, 2000). Selain itu, paparan nikotin dapat menyebabkan rusaknya sistem syaraf dan penyempitan pembuluh darah. Jumlah nikotin yang masuk ke dalam tubuh bergantung pada jumlah tembakau yang terkandung di dalam rokok, kualitas rokok, penggunaan filter, serta lama dan dalamnya isapan saat merokok (Benowitz, 2010).

## 2. Tar

Tar adalah zat berwarna cokelat berisi berbagai jenis hidrokarbon aromatik polisiklik, amin aromatik, dan N-nitrosamine. Zat ini bersifat lengket dan menempel pada paru-paru. Tar terdiri dari ribuan zat kimia yang terkumpul dalam komponen padat asap rokok yang pada umumnya merupakan zat kimia karsinogenik. Oleh sebab itu, tar yang dihasilkan asap rokok dapat menimbulkan iritasi pada saluran napas, menimbulkan bronchitis, kanker nasofaring, dan kanker paru-paru (Mardjun, 2012).

## 3. Karbon monoksida

Merokok dianggap sebagai sumber utama pajanan terhadap karbonmonoksida (CO), walaupun sejumlah kecil pajanan terhadap CO juga dapat berasal dari asap kendaraan bermotor atau asap di tempat bekerja. Saat asap rokok terinhalasi, karbon monoksida akan diabsorpsi melalui paru, masuk ke dalam aliran darah kemudian akan berikatan dengan hemoglobin untuk membentuk karboksihemoglobin (COHb) yang kadarnya dalam darah dapat diukur sebagai marker absorpsi asap rokok. Karbon monoksida akan berada di dalam darah selama 24 jam setelah inhalasi asap rokok

tergantung pada beberapa faktor seperti jenis kelamin, aktifitas fisik dan laju pernapasan (Inayatillah *et al*, 2014).

#### 4. Timah Hitam (Pb)

Pb yang terkandung dalam sebatang rokok dapat menghasilkan polutan berbahaya sebanyak 0,5 mikro gram. Batas maksimal Pb yang dapat masuk ke dalam tubuh manusia adalah sebanyak 20 mikrogram. Sehingga Pb akan menjadi sangat berbahaya terutama jika paparan terhadap asap rokok terjadi dalam waktu yang lama (Triswanto, 2007).

Orang yang banyak merokok (perokok aktif) dan orang yang banyak mengisap asap rokok (perokok pasif), dapat berakibat paru-parunya lebih banyak mengandung karbon monoksida dibandingkan oksigen sehingga kadar oksigen dalam darah kurang lebih 15% daripada kadar oksigen normal. Reaksi yang terjadi dalam tubuh adalah:



Nikotin yang terbawa dalam aliran darah dapat mempengaruhi berbagai bagian tubuh. Nikotin dapat mempercepat denyut jantung (dapat mencapai 20 kali lebih cepat dalam satu menit dari keadaan normal), menurunkan suhu kulit sebanyak satu atau dua derajat karena penyempitan pembuluh darah kulit, dan menyebabkan hati melepaskan gula ke dalam aliran darah. Nikotin mempunyai pengaruh utama terhadap otak dan sistem saraf, juga dapat memberi pengaruh menenangkan. Namun nikotin juga merupakan obat yang bersifat aditif atau menyebabkan kecanduan (Armstrong, 1982).

Kandungan asap rokok kretek yang terhirup dapat menghabiskan antioksidan intraseluler di dalam tubuh melalui mekanisme yang dikaitkan terhadap stress oksidatif, selanjutnya stres oksidatif menyebabkan peroksidasi



lipid yang akan menimbulkan kerusakan membran sel. Membran sel membantu pengaturan keluar masuk berbagai zat melalui proses transport pasif dan aktif, dan juga sebagai tempat melekatnya berbagai enzim. Hilangnya integritas membran sel menyebabkan penumpukan kelebihan cairan jaringan dalam sel yang disebut edema yang merupakan fase menuju kematian sel (*nekrosis*) (Larasati, 2010).

Penurunan berat badan disebabkan karena paparan asap rokok akan meningkatkan jumlah radikal bebas. Tubuh sebenarnya memiliki antioksidan endogen untuk melawan radikal bebas tapi apabila kadar radikal bebas terus meningkat maka antioksidan endogen tidak mampu mengimbangi peningkatan tersebut, sehingga terjadi stres oksidatif. Pada kondisi stres oksidatif akan terjadi peroksidasi lemak yang pada akhirnya akan merusak sel, selain itu hasil samping berupa MDA juga bersifat sitotoksik bagi sel endotel. Paparan asap rokok juga mengakibatkan sel endotel mengalami *disjunction* dengan jaringan dibawahnya sehingga akan terlepas ke dalam sirkulasi (Samsuria, 2009).

## 2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan dalam orbital atom atau molekul (Valko *et al.*, 2007). Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh. Tubuh manusia mengandung molekul oksigen yang stabil dan yang tidak stabil. Molekul oksigen yang stabil penting untuk memelihara kehidupan sel. Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya.

Fungsi radikal bebas dalam tubuh adalah untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah (Giriwijoyo, 2004).

Pada keadaan normal, secara fisiologis sel memproduksi radikal bebas sebagai konsekuensi logis pada reaksi biokimia dalam kehidupan aerobik. Organisme aerobik memerlukan oksigen untuk menghasilkan ATP, yaitu suatu senyawa yang merupakan sumber energi bagi makhluk hidup melalui fosforilasi oksidatif yang terjadi dalam mitokondria. Pada proses tersebut terjadi reduksi  $O_2$  menjadi  $H_2O$  yang memerlukan pengalihan 4 elektron. Namun, dalam keadaan tertentu, pengalihan elektron tersebut berjalan kurang sempurna sehingga dapat terbentuk radikal bebas yang dapat merusak sel jika tidak dicegah (Suryohudoyo, 2007).

ROS endogen berasal dari rantai pernafasan di mitokondria, reaksi imun, enzim seperti *xanthine oxidase* dan *nitric oxide synthase*, dan *transition metal mediated oxidation*. ROS yang eksogen yaitu radikal bebas yang berasal dari lingkungan seperti asap rokok, radiasi, pestisida, polusi, limbah industry, dan ozon (Pandey and Rizvi, 2011). Asap rokok *mainstream* di bagi menjadi partikel fase padat (tar) dan fase gas (gas beracun, senyawa organik yang mudah menguap, radikal bebas). Asap rokok *sidestream* dibagi menjadi dalam fase padat dan gas yang mengandung konsentrasi senyawa beracun dan karsinogenik yang lebih tinggi (Valavanidis *et al.*, 2009).

Radikal bebas akan merusak molekul yang elektronnya ditarik oleh radikal bebas tersebut sehingga menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Molekul utama di dalam tubuh yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak dan protein (Suryohudoyo, 2007). Seiring

bertambahnya usia maka akumulasi kerusakan sel akibat radikal bebas semakin mengambil peranan, sehingga mengganggu metabolisme sel, juga merangsang mutasi sel, yang berakibat pada kanker bahkan kematian (Goldman dan Klatz, 2007). Sifat negatif radikal bebas adalah dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Hal ini terjadi karena ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan. Radikal bebas dalam jumlah berlebihan sementara jumlah antioksidan seluler lebih sedikit sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel (Costa *et al.*, 2005).

### 2.3 Stres Oksidatif

Asap rokok di samping banyak sekali mengandung bahan-bahan yang bersifat toksik, terdapat juga zat-zat radikal bebas, di antaranya adalah peroksinitrit, hidrogen peroksida, dan superoksida. Oleh sebab itu, tubuh kita memiliki sistem pertahanan berupa enzim atau substrat yang berfungsi sebagai antioksidan, seperti superoksid dismutase, hidrogen peroksidase, *gluthatione*, dan lain-lain. Keseimbangan antara produksi radikal bebas dan zat antioksidan dalam tubuh dapat bergeser ke arah meningkatnya konsentrasi radikal bebas jika kondisi tubuh kita terpapar oleh berbagai macam substansi dalam lingkungan yang mengandung banyak sekali radikal bebas, dalam hal ini asap rokok (Murray *et al.*, 2006).

Bukti oksidasi DNA lainnya antara lain kematian sel, mutasi DNA, kesalahan replikasi, dan ketidakstabilan genomik dapat terjadi jika kerusakan DNA oksidatif tidak diperbaiki sebelum replikasi DNA. Kerusakan DNA dapat menghasilkan satu atau untai ganda kerusakan, modifikasi dasar, modifikasi deoksiribosa, dan DNA *cross-linking* (Marnett, 2000; Cooke, 2003; Valko *et al.*,

2006). Contoh lain kerusakan akibat stress oksidatif adalah oksidasi basa nitrogen guanosin menjadi *8-oxoguanosine*, yang tidak lagi membentuk ikatan hidrogen dengan *cytosine* namun membentuk ikatan hidrogen dengan *adenosine*, dengan demikian terjadi mutasi dalam DNA. Sama halnya dengan produksi radikal bebas, mutasi DNA hampir terjadi sepanjang waktu, dan mengingat sebagian besar mutasi adalah merugikan sebab ia merusak fungsi gen, akumulasi kerusakan akibat oksidasi seperti ini akan mengarah pada menurunnya fungsi seluler atau bahkan munculnya sel kanker (Hyde, 2009).

Spesies oksigen reaktif juga dapat dihasilkan oleh radiasi pengion atau ultraviolet. Bahan kimia eksogen tertentu dalam siklus redoks mengikuti metabolisme oleh sel, dengan produksi berikutnya elektron, yang dapat ditransfer ke molekul oksigen menghasilkan superoksida. Terlepas dari peristiwa tersebut, spesies oksigen reaktif dapat berinteraksi dengan biomolekuler seluler, seperti DNA, yang mengarah ke modifikasi dan konsekuensi yang berpotensi serius bagi sel (Christopher *et al.*, 2002). Radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk di sekitar DNA seperti pada radiasi biologis. Senyawa 8-oksoguanosin merupakan salah satu biomarker kerusakan oksidatif DNA (*DNA adduct*), 8-oksoguanosin digunakan sebagai biomarker terhadap paparan rokok pada kasus kanker, perokok sehat dan non perokok. Kadar 8-oksoguanosin dalam urin telah digunakan untuk menilai tingkat kerusakan oksidatif DNA pada keseluruhan tubuh dan dianggap sebagai cara terbaik untuk melihat tingkat kerusakan oksidatif pada DNA ini (Halliwell dan Whiteman, 2004).

Sejauh ini ada 24 modifikasi basa terkait dengan serangan ROS (*Reactive Oxygen Species*) telah teridentifikasi. Di antara basa-basa termodifikasi ini, 8-oksoguanosin adalah *adduct* yang paling dominan. 8-oksoguanosin terbentuk

melalui oksidasi basa guanin pada posisi C-8. DNA *adduct* ini terdeteksi dalam berbagai jaringan dan urin, serta merupakan biomarker yang paling banyak digunakan untuk kerusakan oksidatif DNA, baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Interaksi antara radikal hidroksil dengan basa pada untai DNA, seperti guanin, menyebabkan pembentukan C8-hidroksiguanin. Pada awalnya reaksi radikal hidroksil memicu pembentukan *adduct* radikal, kemudian oleh pengurangan satu elektron, terbentuklah 8-oksoguanosin. Kenaikan kadar 8-oksoguanosin ditemukan dalam jaringan manusia, termasuk paru-paru dan leukosit perifer pada perokok. Peningkatan kadar 8-oksoguanosin juga ditemukan pada perokok pasif yang terpapar asap rokok di tempat kerja (Valavanidisi *et al.*, 2009).

#### 2.4 MDA (*Malondialdehid*)

Ada beberapa indikator lainnya untuk mengetahui terjadinya stres oksidatif, misalnya *Malondialdehyde* (MDA) yang merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas. *Malondialdehyde* (MDA) dapat terbentuk apabila radikal bebas hidroksil seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak tersebut akan menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa toksik dan menyebabkan kerusakan pada membran sel. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas di dalam sel sehingga dijadikan sebagai salah satu petunjuk terjadinya stres oksidatif akibat radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa rokok termasuk salah satu kebiasaan yang beresiko menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas karena kandungan *Nitrogen Oksida* dari asap rokok, merupakan oksidator

yang kuat, yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dan menghasilkan MDA (Asni *et al.*, 2009).

## 2.5 Antioksidan

Secara fisiologis, tubuh manusia mempunyai beberapa macam enzim dan senyawa non enzim tertentu yang berfungsi sebagai antioksidan. kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*elektron donor*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan.. Antioksidan biologis dapat dibagi berdasarkan proses enzimatik dan non-enzimatik. Antioksidan endogen terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Sedangkan antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh termasuk antioksidan non-enzimatik, terbagi atas antioksidan larut lemak ( $\alpha$ -tokoferol, karotenoid, quinon dan bilirubin) dan antioksidan larut air (asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, protein pengikat heme) (Halliwell dan Gutteridge, 1999).

Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan penyakit degeneratif lainnya bisa diturunkan dengan mengkonsumsi antioksidan dalam jumlah yang cukup. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan

dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok usia (Winarsi, 2007).

Di dalam sistem biokimia terdapat keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan, sehingga jaringan tubuh terhindar dari kerusakan akibat ROS. Ketika terjadi peningkatan kadar ROS, tubuh akan merespon dengan memproduksi enzim CAT, HPx, dan SOD untuk menetralkan ROS. Namun demikian tetap ada sebagian ROS yang masih tersisa, terutama bila produksi ROS berlebihan. Untuk meredam ROS yang masih tersisa perlu disediakan antioksidan tambahan seperti vitamin C, vitamin E, asam urat, polyfenol (flavonoid), dll untuk menangkap efek dari ROS tersebut. Antioksidan lain seperti ubiquinon dan beta carotene adalah antioksidan larut lemak yang akan menangkap radikal pada membran sel dan plasma lipoprotein. Selain antioksidan larut lemak juga ada berbagai antioksidan yang larut air seperti ascorbat, asam urat, dan derivat polifenol yang berasal dari tanaman. Antioksidan tersebut bertindak sebagai antioksidan yang akan menangkap radikal larut air, kemudian membentuk radikal yang relatif stabil dan dapat bertahan cukup lama sampai bereaksi dengan produk nonradikal. Berdasarkan aktivitas antioksidan tersebut maka mengonsumsi antioksidan akan lebih baik bila diberikan tidak dalam bentuk tunggal, tetapi kombinasi (Bender, 2009).

Pada keadaan patologik diantaranya akibat terbentuknya radikal bebas dalam jumlah berlebihan, enzim yang berfungsi sebagai antioksidan endogen dapat menurun aktivitasnya. Menurut konsep radikal bebas, kerusakan sel akibat molekul radikal baru dapat terjadi apabila kemampuan mekanisme pertahanan tubuh sudah dilampaui atau menurun.

## 2.6 Kefir Susu Sapi

Kefir adalah susu fermentasi yang memiliki rasa, warna dan konsistensi yang menyerupai yoghurt dan memiliki aroma khas *yeasty* (seperti tape). Kefir diperoleh melalui proses fermentasi susu pasteurisasi menggunakan starter berupa butir atau biji kefir (*kefir grain/kefir granule*), yaitu butiran-butiran putih atau *krem* dari kumpulan bakteri, antara lain *Streptococcus sp.*, *Lactobacilli* dan beberapa jenis ragi khamir non patogen. Bakteri berperan menghasilkan asam laktat dan komponen flavor, sedangkan ragi menghasilkan gas asam arang atau karbon dioksida dan sedikit alkohol. Itulah sebabnya rasa kefir asam dan juga ada sedikit rasa alkohol dan soda, dan kombinasi karbon dioksida dan alkohol menghasilkan buih yang menciptakan karakter mendesis pada produk (Usmiati, 2007).

Kefir juga merupakan sistem mikroba kompleks yang tidak hanya terbukti bermanfaat secara nutrisi, tetapi juga telah terbukti dapat menghambat sejumlah patogen bawaan makanan dan mikroorganisme pembusuk (Paucean dan Carmen, 2008). Banyak produk probiotik telah diformulasikan yang mengandung sejumlah kecil bakteri berbeda. Mikrobiologi dan komposisi kimia kefir menunjukkan bahwa itu adalah probiotik yang jauh lebih kompleks. Karena ragi dan bakteri yang ada dalam biji kefir telah mengalami hubungan yang panjang, populasi mikroba yang dihasilkan menunjukkan banyak karakteristik yang serupa, membuat isolasi dan identifikasi spesies individu menjadi sulit. Banyak dari mikroorganisme ini sekarang diidentifikasi dengan menggunakan teknik biologi molekuler canggih (Edward, 2006).



Standar CODEX No. 243 (CODEX, 2003) menyatakan bahwa biji kefir ini mengandung *Lactobacillus kefir*, spesies dari genus *Leuconostoc*, *Lactococcus* dan *Acetobacter* yang tumbuh dengan hubungan yang spesifik dan kuat, biji kefir juga mengandung khamir yang dapat memfermentasi laktosa yaitu *Kluyvermyces marxianus* maupun yang tidak dapat memfermentasi laktosa yaitu *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces exiguus*. Produk fermentasi dipengaruhi oleh kemampuan starter dalam membentuk asam laktat yang ditentukan oleh jumlah dan jenis starter yang digunakan (Albaari dan Murti, 2003).

Metabolisme senyawa protein pada kefir susu sapi secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA dalam darah dan dapat membantu memenuhi kebutuhan antioksidan endogen yang non adekuat. Aktivitas antioksidan dalam kefir secara tidak langsung dapat bekerja menghambat oksidasi, mengurangi radikal hidroksil, superoksida dan peroksida. Aktivitas antioksidan akan memberikan atom hidrogen dari NADP yang nantinya akan mengurangi keberadaan radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh. Efek dari pemberian kefir susu sapi yang mengandung antioksidan sekaligus dapat menurunkan peroksidasi lipid yang berpengaruh terhadap menurunnya kadar MDA (Judiono *et al*, 2011). Peptida yang berasal dari hidrosilat protein susu menghambat proses oksidasi lipid, yang membuktikan bahwa residu asam amino kelompok rantai samping tertentu atau struktur peptida spesifik dari peptida antioksidan diakibatkan karena adanya ion logam prooksidatif dan pemutusan reaksi radikal bebas. susu sapi yang difermentasi dengan bibit kefir selama kurang lebih 32 jam menunjukkan hasil yang signifikan dalam menghambat peroksidasi lemak asam linoleik (Liu *et al*, 2005).

## 2.6.1 Manfaat Kefir

### 2.6.1.1 Kefir sebagai Antikarsinogenik

Dalam sebuah studi De Moreno *et al.* (2006) tentang kanker payudara yang diinduksi pada tikus, melaporkan bahwa tikus yang menerima dua hari pemberian makan siklus dengan kefir dan fraksi bebas sel dari kefir selama 27 hari mengalami penurunan pertumbuhan tumor dan peningkatan sel IgA (+). Hal ini berdasarkan dari Sel IgA (+) dapat mengikat metabolit beracun yang dihasilkan selama perkembangan tumor dan menunjukkan pentingnya komponen non-mikroba yang dilepaskan selama fermentasi susu. Ekstrak kefir juga telah terbukti dapat menekan pertumbuhan sel kanker payudara secara *in vitro*. Beberapa kemampuan antitumorigenik kefir telah dikaitkan dengan adanya kefiran *exopolisakarida*. Kefiran terbukti menghambat karsinoma *Ehrlich* dan *Sarcoma 180* dalam penelitian tikus, hal ini terjadi akibat adanya polisakarida yang dapat merangsang sistem kekebalan tubuh melalui aktivitas sel T pada *host*, dibanding bekerja melawan sel kanker secara langsung.

Selain itu, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak kefir dan kefir isolat bakteri memiliki potensi untuk mengurangi risiko atau menangkap perkembangan pertumbuhan kanker secara *in vitro* atau pada hewan percobaan (Rattray dan Connell, 2011).

### 2.6.1.2 Kefir sebagai antimikroba

Selain itu, Ahmed *et al.* (2011) melaporkan bahwa suspensi kefir, butir kefir dan kefir menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap beberapa spesies bakteri uniseluler dan aktivitas antijamur baru terhadap spesies jamur berfilamen. Selain itu, studi dari beberapa ilmuwan (Diniz *et al.*, 2003; Kwon *et al.*, 2003; Rodrigues *et al.*, 2005; Schneedorf dan Anfiteatro, 2004) menyatakan bahwa

kefir dan exopolysaccharide, kefiran, memiliki aktivitas antimikroba. Keduanya dilaporkan menunjukkan aktivitas antibiotik yang signifikan terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif serta ragi, *Candida albicans*.

### 2.6.1.3 Kefir dalam Menurunkan Kolesterol

Beberapa ilmuwan dari (Brashears et al., 1998; Tamai Y et al., 1996) mengatakan bahwa penurunan konsentrasi serum kolesterol yang disebabkan oleh kefir dikaitkan dengan terjadinya dekonjugasi asam empedu oleh *Lactobacillus species*. Sebuah studi oleh Reynier dan timnya (1981) mengungkapkan bahwa dekonjugasi asam empedu mengurangi kadar kolesterol serum dengan meningkatkan pembentukan asam empedu baru yang diperlukan untuk menggantikan mereka yang telah hilang dari sirkulasi enterohepatik. Hal ini dikaitkan dengan kerja metabolisme kolesterol yang lebih tinggi dapat menurunkan kadar kolesterol serum.

### 2.6.2 Kefir dalam Kehamilan

Menurut National Kefir Association, wanita hamil dan ibu menyusui dikategorikan aman untuk mengonsumsi kefir, hal ini dapat membantu proses penyerapan nutrisi, meningkatkan kekebalan, membantu tubuh menyesuaikan dengan perubahan hormonal dan mencegah penyakit infeksi yang berlebih. Konsumsi kefir oleh wanita hamil dapat mencegah pertumbuhan bakteri yang berlebihan yaitu grup *B Beta Streptococcus*. *Beta streptococcus* adalah bakteri berbahaya yang dapat menyebabkan infeksi seperti sepsis, pneumonia, dan meningitis (Sandra, 2013).

## 2.7 Tikus Putih

Menurut Sirois (2005), tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Strain Wistar termasuk ke dalam hewan mamalia yang memiliki ekor panjang. Ciri-ciri galur ini yaitu bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit. Telinga tikus ini tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata tikus putih berwarna merah. Ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang panjang (lebih panjang dibandingkan tubuh). Bobot badan tikus jantan pada umur dua belas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4 – 5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267 – 500 gram dan betina 225 – 325 gram.



**Gambar 2.1. Tikus Putih *Rattus Norvegicus* (Adiyati, 2011)**

Berikut ini adalah klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley menurut Adiyati (2011).

Kingdom : *Animalia*

Subordo : *Sciurognathi*

Filum : *Chordata*

Sub-Famili : *Murinae*

Kelas : *Mamalia*

Genus : *Rattus*

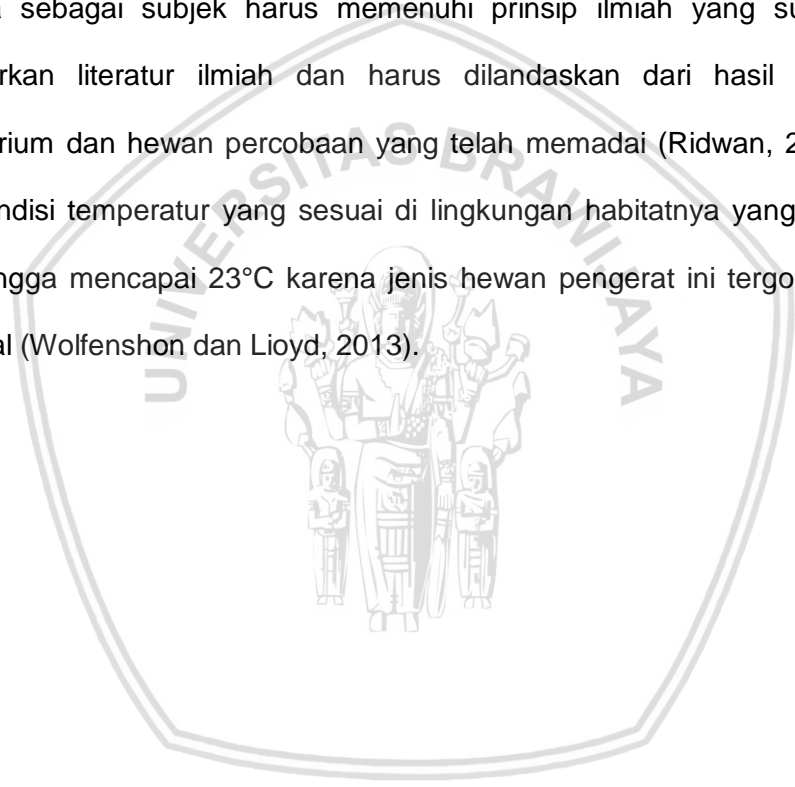
Ordo : *Rodentia*

Spesies : *Rattus norvegicus*

Famili : *Muridae*

Galur/Strain : *Sprague dawley*

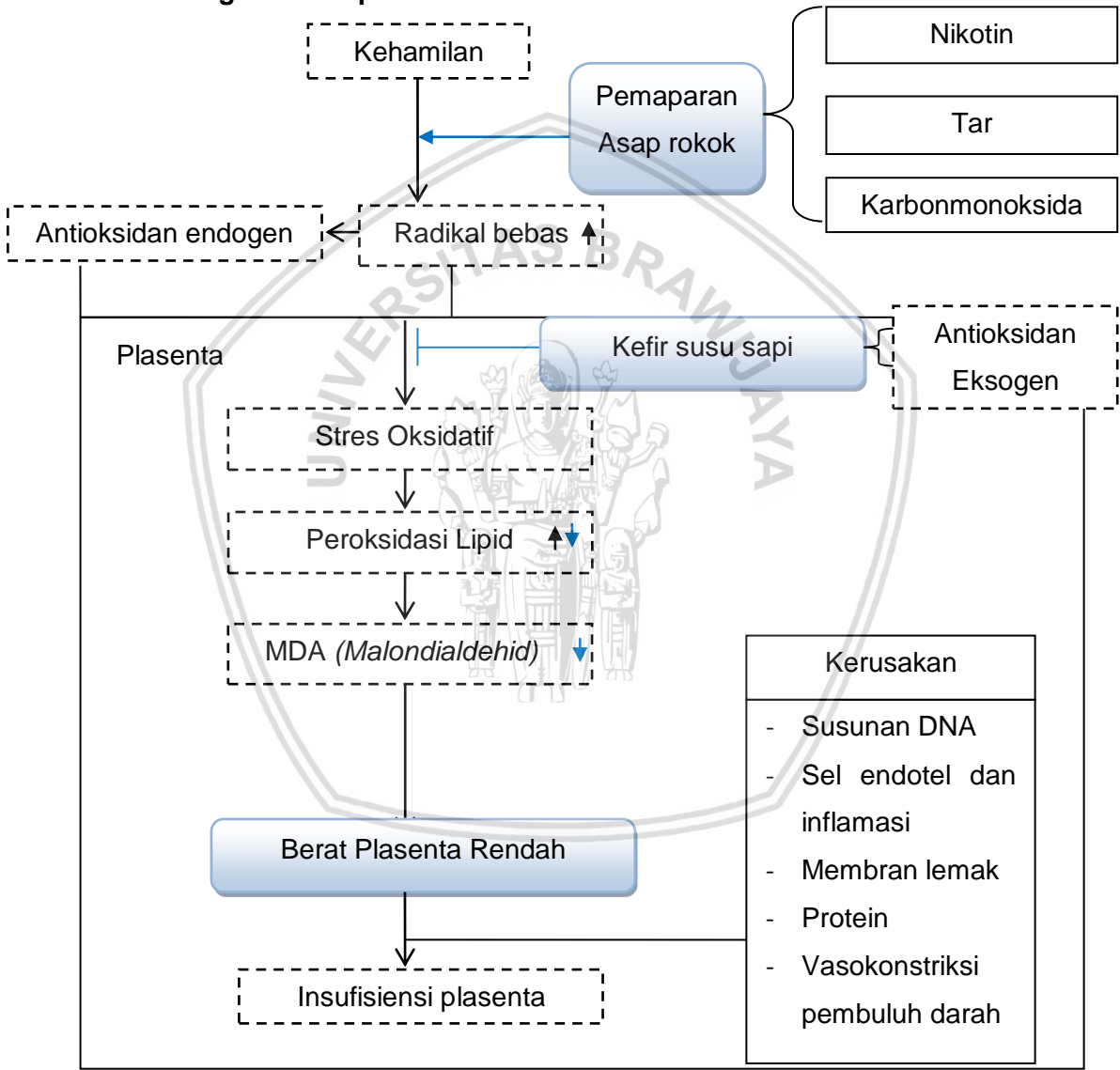
Tikus putih merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus*. Tikus putih banyak digunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium. Tikus memiliki beberapa galur yang merupakan hasil pembiakan sesama jenis atau 15 persilangan. Selain Wistar, galur tikus yang sering digunakan untuk bidang penelitian adalah galur Sprague dawley (Inglis 1980). Pada peraturan kode etik penelitian menyebutkan bahwa salah satu prinsip dasar melakukan riset biomedis manusia sebagai subjek harus memenuhi prinsip ilmiah yang sudah diakui berdasarkan literatur ilmiah dan harus dilandaskan dari hasil eksperimen laboratorium dan hewan percobaan yang telah memadai (Ridwan, 2013). Pada tikus kondisi temperatur yang sesuai di lingkungan habitatnya yang pada suhu 19°C hingga mencapai 23°C karena jenis hewan pengerat ini tergolong hewan nokturnal (Wolfenshon dan Liloyd, 2013).








BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



**Keterangan :**

-  : Variabel yang diteliti
-  : Variabel yang tidak diteliti
-  : Menghambat
-  : Perlakuan
-  : Kandungan

**3.2 Uraian Kerangka Konsep**

Paparan asap rokok pada saat kehamilan akan mengakibatkan berbagai macam reaksi tubuh karena tiga kandungan asap rokok yang sangat berbahaya seperti karbonmonoksida (CO), nikotin dan tar. Komponen asap rokok yang dapat menyebabkan disfungsi sel pada plasenta salah satunya radikal bebas. Radikal bebas akan merusak tiga komponen molekul utama dari sel tubuh yaitu lipid, protein dan DNA. Kerusakan pada lipid disetiap oksidasi dan pada proses dasar oksidasi DNA sel akan mengganggu integritas sel, sehingga akan menimbulkan kematian sel. Disamping hal itu pengaruh karbonmonoksida yang menimbulkan keadaan hipoksia (kekurangan oksigen) dalam jaringan janin, yang bisa menghambat pertumbuhan, kelahiran prematur, berat badan lahir rendah, bahkan risiko kematian janin.

Radikal Bebas yang meningkat di dalam tubuh karena efek dari paparan asap rokok sehingga menyebabkan MDA (*Malondialdehyde*) di dalam sel juga ikut meningkat. Kadar MDA yang meningkat salah satu penyebab terjadinya kerusakan sel pada plasenta dengan memicu terjadinya peningkatan peroksidasi lemak sehingga kerusakan pada sel dapat berdampak pada kematian sel.

Antioksidan pada kefir diduga melalui mekanisme yang berhubungan dengan komponen bioaktifnya, seperti dari komponen eksopolisakarida dan peptida. Selain itu, kandungan kefir memiliki kandungan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi untuk mencegah peroksidasi lipid yang berpengaruh terhadap rendahnya kadar MDA oleh karena komponen sel dari bakteri ataupun mikroorganisme dari peptida kefir selama proses fermentasi susu berlangsung. Antioksidan pada kefir berkerja sebagai pendonor hidrogen dalam membantu mengurangi aktifitas radikal bebas yang meningkat karena paparan asap rokok. Penurunan peroksidasi lipid yang berlangsung dapat membantu memperbaiki kerusakan-kerusakan terhadap komponen plasenta yang ditimbulkan oleh paparan asap rokok, seperti kerusakan pada sel endotel plasenta, kerusakan lipid membran, dan kerusakan protein sehingga diduga dapat membantu memperlancar aliran darah menuju plasenta karena pembuluh darah mengalami vasodilatasi. Hal ini dapat diasumsikan bahwa pemberian kefir susu sapi dapat membantu mencegah insufisiensi plasenta yang berpengaruh dalam mengembalikan fungsi sel yang rusak serta mempengaruhi berat plasenta yang turun akibat radikal bebas.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian kefir susu sapi dapat mempengaruhi kenaikan dari berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan studi eksperimental laboratorium. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Adapun subjek penelitian dibagi menjadi 5 kelompok dipilih secara random terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Penelitian dilakukan setelah perlakuan (*post test*) untuk membandingkan pengaruh berat plasenta tikus antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

#### 4.2 Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus novergicus strain wistar* bunting sebagai hewan coba dan dipelihara selama penelitian di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tikus yang digunakan sebagai hewan coba di ambil sesuai dari kriteria inklusi.

Pembagian sampel dibagi dalam jumlah replikasi (n) pada setiap perlakuan (p) yang dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Solimun, 2001) dengan p=5 adalah :

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

$$pn - p \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan yang didapatkan, yaitu  $n \geq 4$ , maka replikasi per kelompok minimal 4. Penelitian ini melakukan percobaan sebanyak 5 kali replikasi untuk masing-masing kelompok. Dalam penelitian ini, menggunakan 5 ekor tikus bunting sebagai sampel untuk tiap kelompok sehingga besar sampel secara keseluruhan adalah 25 ekor.

#### 4.2.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus yang digunakan berjenis kelamin betina dan bunting
- b. Berat badan tikus yang diambil kisaran antara 130-160 gram
- c. Umur tikus yang digunakan kisaran 8 minggu
- d. Tikus yang sehat, ditandai dengan pergerakan yang aktif dan normal, bulu yang bersih dan tidak rontok, mata yang jernih serta anggota tubuh yang utuh tidak cacat.

#### 4.2.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang kondisinya menurun (sakit) dan tikus yang mati selama penelitian berlangsung
- b. Terlalu melahirkan lebih dulu dari waktu pembedahan (keguguran dan prematur)

#### 4.2.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Masing-masing kelompok terdiri dari 5 tikus bunting yang terbagi menjadi:

1. Kelompok kontrol negatif (K-) : tikus bunting tanpa dipapar asap rokok dan tanpa pemberian kefir susu sapi.

2. Kelompok kontrol positif (K+) : tikus yang dipapar asap rokok dan tanpa pemberian kefir susu sapi.
3. Kelompok perlakuan 1 (P1) : tikus yang dipapar asap rokok dan diberikan kefir susu sapi dengan dosis 0,375 ml/hari.
4. Kelompok perlakuan 2 (P2) : tikus yang dipapar asap rokok dan diberikan kefir susu sapi dengan dosis 0,75 ml/hari.
5. Kelompok perlakuan 3 (P3) : tikus yang dipapar asap rokok dan diberikan kefir susu sapi dengan dosis 1,5 ml/hari.

#### 4.3 Variabel Penelitian

##### 1. Variabel Bebas

- Pemaparan asap rokok
- Pemberian kefir susu sapi (Pro Kefir) ke dalam 3 kelompok perlakuan dengan varian dosis yang berbeda

##### 2. Variabel Tergantung

- Berat Plasenta tikus putih (*Rattus norvegicus strain wistar*) bunting yang dipapar asap rokok sampai hari ke-18 kebuntingan.

#### 4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan dan perlakuan selama penelitian berlangsung dilakukan bertempat di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Waktu penelitian dilaksanakan pada awal bulan Oktober 2017 hingga pertengahan bulan Januari 2018.

#### 4.5 Bahan Penelitian

#### 4.5.1 Bahan Pemeliharaan Hewan Coba

Makanan untuk hewan coba yaitu makanan pakan standart dan minuman hewan coba yaitu air keran. Bahan makanan tikus dari beberapa penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, yang diketahui kebutuhan makan tikus per ekor setiap harinya adalah 40 gram yang terdiri dari : Comfeed PARS Boiler (BR1), Terigu dan Air serta minuman yang diberikan kepada hewan coba menggunakan air mineral.

#### 4.5.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba

a. Rokok

Asap rokok yang dipaparkan yaitu berasal dari rokok kretek.

b. Kefir Susu Sapi

Kefir susu sapi yang didapatkan dari Laboratorium Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

#### 4.6 Alat Penelitian

##### 4.6.1 Alat Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Kandang tikus yang berupa kotak plastik berukuran 43 x 35 x 13 cm sebanyak 5 buah, yang diisi dengan sekam dan di tutup dengan kawat kasa. Masing-masing kandang ditempati 5 ekor tikus bunting. Tempat makan dan minum tikus.
- b. Alat pembuatan makanan hewan coba berupa baskom plastik, timbangan, pengaduk, *handcsoon* dan gelas ukur.

##### 4.6.2 Penimbangan Berat Plasenta Hewan Coba

Penimbangan dengan menggunakan Neraca Analitik

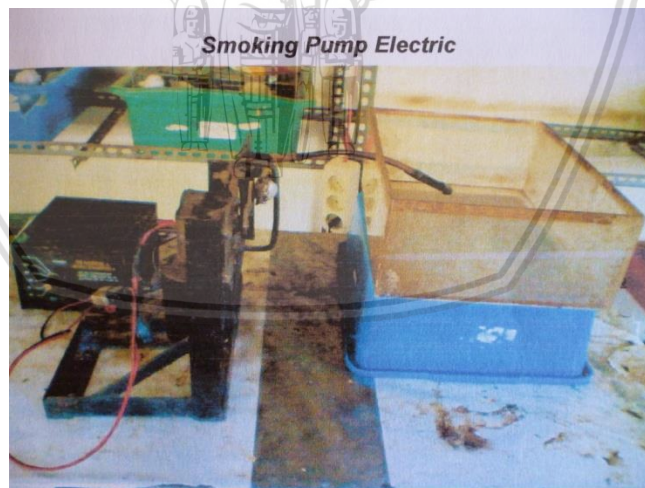
#### 4.6.3 Alat Pemberian Kefir Susu Sapi pada Hewan Coba

- a. Spuit 3 ml
- b. Sonde untuk mulut sampai lambung tikus.

#### 4.6.4 Alat untuk Pemaparan Asap Rokok

Alat yang digunakan untuk pemaparan asap rokok yaitu menggunakan alat *smoking pump* yang dimiliki oleh Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Alat *smoking pump* ini terdiri dari:

- a. *Box* tikus
- b. Selang penyalur asap rokok
- c. Selang untuk meletakkan rokok
- d. Saklar *smoking pump*.



**Gambar 4.2 Alat *Smoking Pump***

Alat ini juga berupa sebuah kotak yang berasal dari *fiberglass*, yang memiliki tiga ruangan tiap ruang berukuran 26x12x12 cm<sup>2</sup>. Tiap ruangan terdapat pipa yang berfungsi sebagai pengalir asap rokok. Ketiga pipa akan berkesinambungan dengan pipa yang dipasang rokok. Selain itu, tersedia

pompa sebagai penghisap rokok yang proses perlakuan dibantu dengan adanya adaptor. Terdapat dua klep yang dapat membuka dan menutup secara otomatis saat proses penghisapan dan penutupan asap rokok berlangsung (Widodo, 2006).

#### 4.6.5 Alat Pembedahan dan Pengambilan Bayi Tikus

Alat yang digunakan dalam pembedahan dan pengambilan bayi tikus menggunakan kapas, *scalpel*, gunting, *pinset*, jarum pentul, alas kayu, dan *handscoon*.

#### 4.6.6 Alat untuk Penimbangan Berat Plasenta Tikus

Alat untuk penimbangan plasenta tikus setelah di bersihkan dari selaput plasenta menggunakan *handscoon*, *neraca analitik* dan *pinset*.

### 4.7 Definisi Operasional

#### 1. Hewan Coba

Hewan coba yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina bunting yang berusia minimal 8 minggu dengan berat badan induk 130-160 gram yang didapatkan dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Islam Negeri Malang yang berlokasi di daerah Sumbersari kecamatan Lowokwaru Malang.

#### 2. Tikus Bunting

Tikus merupakan hewan yang melakukan kopulasi pada malam hari. Tikus bunting yaitu tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang telah dikawinkan dengan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dan menunjukkan tanda-tanda kebuntingan berupa adanya sumbat vagina (*vaginal plaque*) yang merupakan penggumpalan air mani

dan berasal dari sekresi kelenjar khusus betina. Kopulasi pada tikus betina biasanya terjadi dalam 3 jam pertama di fase estrus. Jika telah timbul tanda estrus, maka tikus betina dikawinkan dengan tikus jantan. Setelah pagi hari maka mulai dapat dilihat, jika ditemukan *vaginal plaque* maka dapat dinyatakan bunting.

### 3. Usia Kebuntingan Tikus

Usia kebuntingan tikus dihitung yaitu dimulai sejak hari pertama kali munculnya sumbat vagina (*vaginal plaque*) hingga hari ke-19 kebuntingan. Setelah lebih dari hari ke-19 kebuntingan dimasukkan kedalam waktu pembedahan.

### 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. Rokok yang digunakan sebanyak 1 batang rokok kretek dengan paparan asap rokok selama 7,5 menit dalam setiap pemaparan (Gamagitta, 2016).

### 5. Kefir Susu Sapi

Kefir susu sapi yang digunakan merupakan kefir susu sapi merk *Pro Kefir* hasil fermentasi susu dengan bibit kefir yang diolah dan didapatkan dari Laboratorium Bahan dan Pangan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Penggunaan kefir susu sapi tersebut diganti setiap tiga hari sekali karena adanya perbedaan kandungan jumlah total bakteri pada hari ke-5 (Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Laboratorium, 2017). Dengan lama pemakaian yaitu berupa penggantian *Pro Kefir* setiap 5 hari sekali yang telah dimasukkan ke dalam lemari es dan tanpa di sentrifugasi terlebih dahulu.

## 6. Berat Plasenta

Hasil timbangan dari plasenta tikus yang sebelumnya telah dibersihkan dari selaput ketuban dan dipisahkan dari tali pusat ditimbang menggunakan neraca analitik yang dinyatakan satuan dalam gram.

## 4.8 Prosedur Penelitian

### 4.8.1 Cara kerja

#### 4.8.1.1 Adaptasi Hewan Coba

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

#### 4.8.1.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok dengan pembagian 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang pada masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus bunting, dengan rincian:

1. Kelompok Kontrol
  - a. Negatif : kelompok tanpa paparan asap rokok dan tanpa diberikan kefir susu sapi.
  - b. Positif : kelompok dengan paparan asap rokok tanpa diberikan kefir susu sapi.
2. Kelompok Perlakuan
  - a. Perlakuan 1 : kelompok dengan paparan asap rokok dan diberikan kefir susu sapi dengan dosis 0,375 ml/hari.
  - b. Perlakuan 2 : kelompok dengan paparan asap rokok dan diberikan kefir susu sapi dengan dosis 0,75 ml/hari.



- c. Perlakuan 3 : kelompok dengan paparan asap rokok dan diberikan kefir susu sapi dengan dosis 1,5 ml/hari.

#### 4.8.1.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba

Sebelum melakukan proses pembuntingan hewan coba, tikus betina akan mengalami fase proestrus yaitu tikus betina mulai muncul keinginan untuk kawin dan akan memulai kopulasi pada malam hari. Pengawinan tikus dimulai jika tikus betina sudah memiliki tanda estrus kira-kira selama 12 jam. Folikel de graf membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan-perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pengawinan dimulai dengan mencampuri satu ekor tikus jantan dan dua ekor tikus betina dengan menggunakan perbandingan 1 : 2 di dalam satu kotak kandang. Tikus jantan dimasukkan ke dalam kandang tikus betina pada sore hari lalu membersihkan sekam yang ada pada kandang tikus betina agar mudah mengamati adanya *vaginal plaque*. Keesokan harinya mulai dapat diamati jika terdapat *vaginal plaque* pada tikus betina maka dapat dinyatakan bunting dihitung pada hari pertama kebuntingan. Tikus yang bunting akan ditandai dengan label (*permanent board marker*) pada ekor tikus lalu dimasukkan ke dalam kelompok yang telah ditentukan kemudian akan diberikan perlakuan (Samsuria, 2009).

#### 4.8.1.4 Penentuan Dosis

Penelitian oleh Fahmy and Ismail (2015) yang meneliti tentang efek gastroprotektif dari kefir pada asam lambung tikus yang diradiasi, menunjukkan

pemberian kefir susu sapi dosis 5 ml/kgBB/hari mempertahankan kadar MDA pada tikus yang diradiasi dengan sinar  $\gamma$ , maka peneliti menggunakan dosis perlakuan sebesar 2,5 ml/kgBB/hari, 5 ml/kgBB/hari dan 10 ml/kgBB/hari. Cara perhitungan dalam menentukan dosis pada kelompok perlakuan kefir susu sapi sebagai berikut :

Dosis 1

Berat Badan Tikus = 150 gram

Dosis Kefir Susu Sapi = 2,5 ml/kg/BB/hari

Kebutuhan dosis untuk tikus =  $0,15 \times 2,5$  ml/hari  
= 0,375 ml

Dosis 2

Berat Badan Tikus = 150 gram

Dosis Kefir Susu Sapi = 5 ml/kg/BB/hari

Kebutuhan dosis untuk tikus =  $0,15 \times 5$  ml/hari  
= 0,75 ml

Dosis 3

Berat Badan Tikus = 150 gram

Dosis Kefir Susu Sapi = 10 ml/kg/BB/hari

Kebutuhan dosis untuk tikus =  $0,15 \times 10$  ml/hari  
= 1,5 ml

#### 4.8.1.5 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus (*Rattus norvegicus*) dipelihara dan diadaptasikan dalam laboratorium selama tujuh hari pada temperatur ruangan yang konstan, selama masa pemeliharaan menggunakan box plastik berukuran 43 x 35 x 12 cm yang ditutup dengan kawat kasa dan diberi alas sekam, masing-masing kandang

untuk 5 ekor tikus bunting. Pemberian porsi makanan untuk tikus yaitu 40 gram/ekor/hari.

#### 4.8.1.6 Prosedur Pemberian kefir Susu Sapi

Kefir susu sapi diberikan dimulai sejak hari ke-5 hingga hari ke-18 kebuntingan. Kefir susu sapi dimasukkan ke dalam spuit berukuran 3 ml yang telah di pasang sonde, kemudian sonde akan dimasukkan ke dalam mulut tikus hingga mencapai lambung tikus. Setiap kelompok diberikan 3 perlakuan yaitu dengan dosis 0,375 ml/hari, 0,75 ml/hari, 1,5 ml/hari.

#### 4.8.1.7 Prosedur Pemaparan Asap Rokok

Pemaparan asap rokok dimulai pada hari ke-5 hingga ke-18 kebuntingan. Rokok yang digunakan sebanyak 1 batang rokok kretek dengan paparan selama 7,5 menit untuk 3 ekor tikus dalam satu kali pemaparan. Prosedur pemaparan asap rokok pada tikus berdasarkan standar pemaparan asap rokok laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yaitu sebagai berikut:

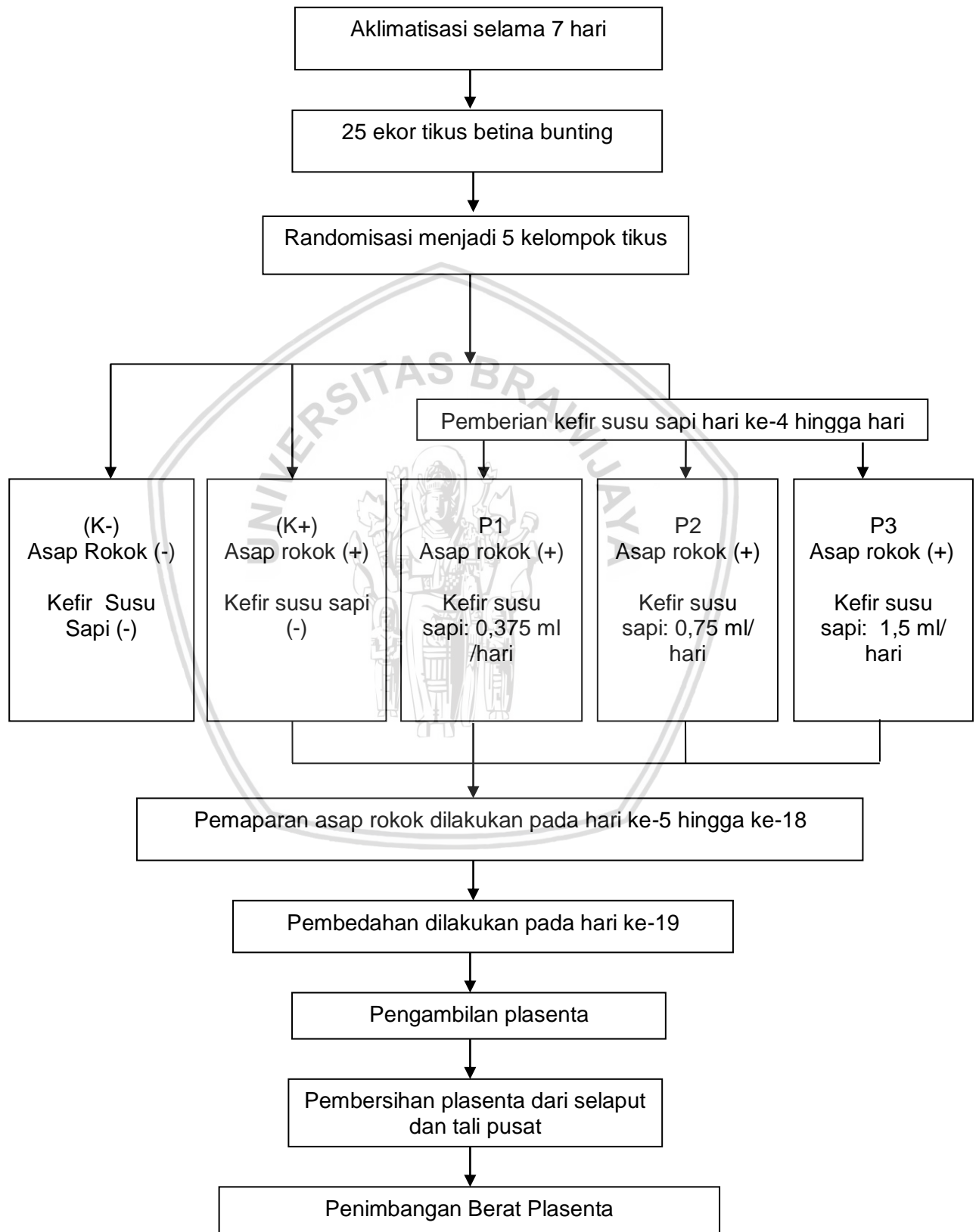
- a. Tikus ditimbang berat badannya dengan menggunakan neraca *analitik* sebelum dipapar asap rokok
- b. Tempat pemaparan asap rokok dibersihkan dari sisa asap
- c. Nikotin yang melekat pada *smoking pump* dibersihkan terlebih dahulu
- d. *Power* dan *self voltage* diperiksa
- e. Rokok dipasang pada pipa sampai batas merah
- f. Tiga ekor tikus dimasukkan ke dalam kotak dan segera di tutup

- 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 terlebih dahulu dari sisa asap rokok perlakuan sebelumnya
- i. Pompa tetap dijalankan tanpa asap rokok untuk mengeluarkan asap rokok
- j. Tahap-tahap di atas diulangi untuk kelompok tikus berikutnya.

#### **4.8.1.8 Prosedur Pembedahan dan Penimbangan Berat Plasenta Tikus**

Pembedahan dilakukan pada hari ke-19 kebuntingan. Tikus diterminasi terlebih dahulu dengan injeksi menggunakan cairan ketamin. Setelah tikus mati, kemudian dibedah dan plasenta serta bayi tikus diambil lalu dipisahkan. Kemudian plasenta dibersihkan dari selaput ketuban dan dipisahkan dari tali pusat. Plasenta yang sudah dibersihkan dari selaput ketuban ditaruh diatas alat timbangan neraca analitik milik Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Setelah berat plasenta tikus usai dilakukan penimbangan, maka ditaruh wadah untuk digunakan bahan penelitian dari beberapa variabel kelompok yang dibutuhkan.

## 4.8.1.9 Alur Penelitian



#### 4.9 Analisa Data

Hasil perhitungan penimbangan berat badan tikus, baik tikus kontrol maupun tikus perlakuan, akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan program *SPSS 22.0 for Windows7* dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p < 0,05$ ).

Langkah-langkah pengujian data dilakukan sebagai berikut:

- a. Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data yang dimiliki, memiliki sebaran normal atau tidak, karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesa bergantung pada normal atau tidaknya distribusi datanya. Apabila data terdistribusi normal, maka digunakan rata-rata dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran data, sedangkan apabila data tidak terdistribusi normal, maka digunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Untuk uji hipotesa, jika sebaran data normal, maka digunakan uji parametrik. Sedangkan jika sebaran data tidak normal, maka yang digunakan adalah uji non parametrik.
- b. Uji Homogenitas Varian: bertujuan untuk menguji apakah uji Anova berlaku atau tidak. Apabila varian dalam kelompok homogen, maka Anova dapat digunakan.
- c. Uji One Way Anova (Analisa Varian Satu Arah): uji ini bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan untuk mengetahui bahwa minimal terdapat dua kelompok yang berbeda signifikan. Selanjutnya apabila terdapat perbedaan antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis.
- d. *Post Hoc Test*: uji ini bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji Anova yang telah dilakukan. Uji *post*

*hoc* yang digunakan adalah uji Tukey-HSD dengan tingkat signifikansi 95% ( $p < 0,05$ ).

e. Uji Regresi Sederhana

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus dan memprediksi berat plasenta tikus tiap kenaikan satu satuan dosis kefir susu sapi.



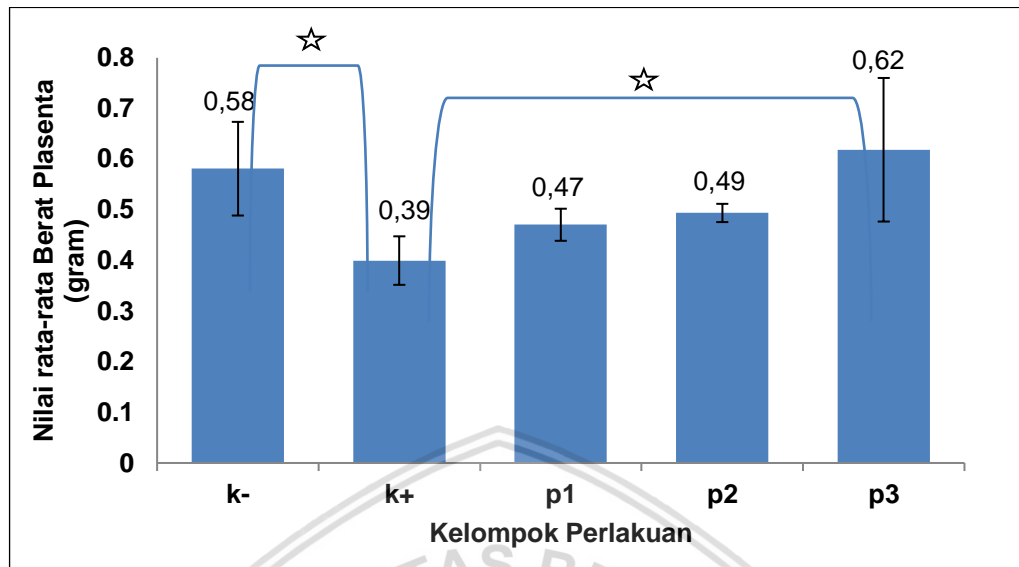
## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Hasil Penelitian

Hasil pembuntingan tikus didapat dari mencampuri satu ekor tikus jantan dan dua ekor tikus betina dengan menggunakan perbandingan 1 : 2 di dalam satu kotak kandang. Tikus jantan dimasukkan ke dalam kandang tikus betina pada sore hari lalu membersihkan sekam dan mengamati adanya *vaginal plaque*. Setelah terdapat *vaginal plaque* pada tikus betina akan ditandai dengan label (*permanent board marker*) pada ekor tikus lalu dimasukkan ke dalam 5 kelompok. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok. Kefir dalam penelitian ini diberikan dalam 3 dosis yaitu 0,375 ml/hari, 0,75 ml/hari, 1,5 ml/hari per gram berat badan tikus. Setelah dilakukan penelitian dengan menggunakan perlakuan kefir sesuai dosis dan paparan asap rokok selama 7,5 menit per harinya terhadap 25 ekor tikus betina bunting yang ditinjau dari hari ke-5 kebuntingan sampai hari ke-18 kebuntingan. maka didapatkan hasil rata-rata dari berat plasenta tikus yang disajikan kedalam grafik sebagai berikut:





**Gambar 5.1 Hasil Pengukuran Berat Plasenta Tikus Bunting yang Dipapar Asap Rokok dan Diberi Kefir**

**Keterangan :** (K-) dengan tanpa asap rokok dan tanpa kefir, (K+) hanya dipapar asap rokok, (P1) diberi asap rokok + kefir dosis 0,375 ml//hari, (P2) diberi asap rokok + kefir dosis 0,75 ml/hari, (P3) diberi asap rokok + kefir dosis 1,5 ml/hari. Data yang tertera dalam grafik ditampilkan ke dalam bentuk rata-rata berat plasenta dan nilai standar deviasi, sedangkan simbol bintang dalam grafik menunjukkan tanda signifikansi dari kelompok (K+) dengan (K-) dan juga antara kelompok (K+) dengan P3.

Berdasarkan grafik diatas menunjukkan bahwa nilai rerata berat plasenta pada kelompok kontrol positif (K+) lebih rendah dibandingkan dengan nilai rerata pada kelompok kontrol negatif (K-) yaitu dengan hasil 0,39 gram pada kelompok (K+). Pada kedua kelompok antara P1 dan P2 tidak menunjukkan hasil yang jauh berbeda namun masih belum efektif dalam mengembalikan berat plasenta dari kelompok (K-) yaitu dengan hasil P1= 0,47 gram dan P2= 0,49 gram. Sedangkan pada kelompok P3 menunjukkan terdapat peningkatan secara signifikan dibandingkan dengan kelompok P1 dan P2 dengan hasil P3=0,62 gram yang menandakan dapat melebihi nilai berat plasenta dari kelompok (K-) sehingga

dosis dapat disimpulkan bahwa kenaikan nilai berat plasenta dimulai dari dosis kelompok P3.

## 5.2 Analisa Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji statistik *One-Way ANOVA* melalui penghitungan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) 22.0 for window. Sebelum uji statistik *One-Way ANOVA* perlu melakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu sebagai syarat untuk menggunakan uji *One-Way ANOVA* dalam kelompok. Selain itu, uji SPSS tersebut bertujuan untuk mengetahui data yang didapatkan termasuk data sebaran normal atau tidak.

Total sampel yang digunakan dalam penelitian berjumlah 25 ekor tikus atau kurang dari 50 sampel, maka uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* dan dikatakan data sebaran normal jika nilai sig  $p > 0,05$ . Sehingga berdasarkan nilai uji normalitas dari penelitian ini, yang diperoleh nilai signifikan dari tiap kelompok 0,994 ; 0,740 ; 0,046 ; 0,299 ; 0,029 ( $p > 0,05$ ) maka dapat dikatakan bahwa data sebaran pada penelitian ini normal.

Selanjutnya uji homogenitas pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah tiap kelompok perlakuan dalam penelitian memiliki varian yang berbeda atau sama. Berdasarkan tabel diperoleh nilai sig 0,064 ( $p > 0,05$ ) yang mengatakan bahwa varian antar tiap kelompok sama. Sehingga sampel yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik varian yang sama. Selanjutnya uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui kelompok mana sajakah yang terdapat perbedaan secara signifikan, maka dilakukan uji Post Hoc dari hasil uji *One-way Anova*, yaitu uji *Tukey-HSD*.

Tabel 5.1 Hasil Uji Tukey HSD

<i>p-value</i>	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
K(-)		0,015*	0,228	0,445	0,945
K(+)			0,640	0,374	0,003*
P1				0,990	0,059
P2					0,141
P3					

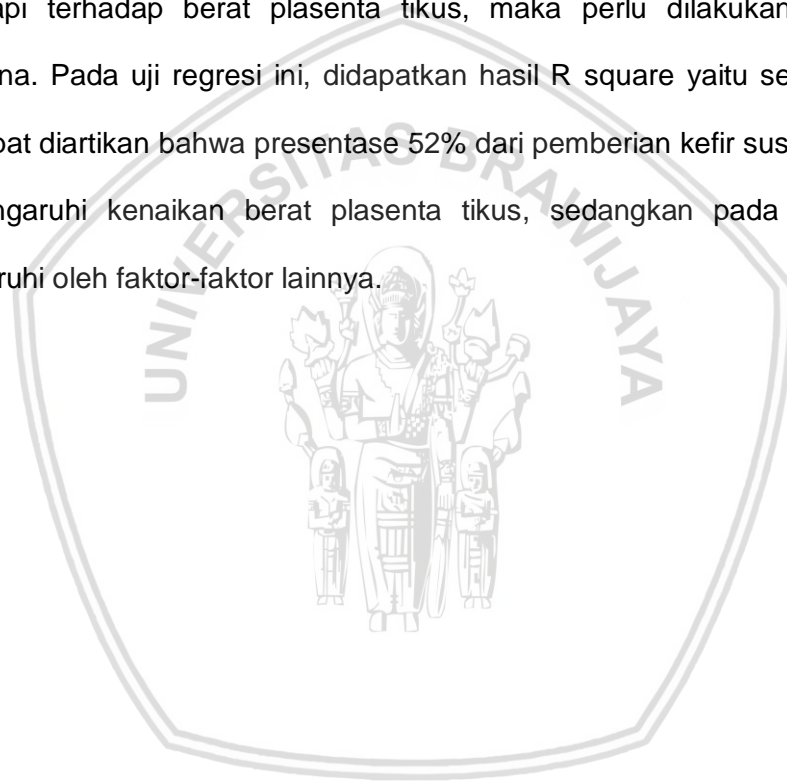
*p value* = (<0,05) adalah bermakna (\*)

Berdasarkan **tabel 5.1** setelah menggunakan uji *Tukey HSD* menunjukkan bahwa kelompok yang diberi perlakuan paparan asap rokok memiliki nilai lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan perlakuan asap rokok maupun kefir susu sapi dengan nilai  $p=0,015$  ( $p<0,05$ ). Kemudian pada kelompok perlakuan (P3) secara signifikan didapatkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu dengan nilai  $p=0,003$  ( $p<0,05$ ). Maka berdasarkan hasil yang ditampilkan pada tabel menunjukkan bahwa terdapatnya perbedaan yang signifikan pada pengukuran berat plasenta antara kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif dan kelompok perlakuan (P3). Selain itu, pada kelompok perlakuan (P1) dan (P2) memiliki nilai yang tidak berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan nilai kelompok perlakuan (P3) namun perbedaan yang paling signifikan terdapat pada kelompok perlakuan dengan pemberian kefir susu sapi dosis tertinggi.

Selanjutnya uji Korelasi perlu dilakukan pada penelitian ini tujuannya agar dapat mengetahui apakah memiliki korelasi antara pemberian kefir susu sapi dengan nilai rerata berat plasenta tikus. Hasil pada uji korelasi Pearson, didapatkan yaitu nilai signifikansi  $p=0,725$  atau positif yang diartikan bahwa korelasi antara kedua variabel adalah "kuat" dan berarti semakin tinggi dosis kefir susu sapi yang diberikan, maka akan semakin berpengaruh terhadap kenaikan berat plasenta tikus. Selama penelitian angka keberhasilan dalam

membuntingkan tikus sekitar 75%, sedangkan kendala dalam membuntingkan tikus sekitar 25%. Beberapa tikus selama penelitian berlangsung yang terpaksa harus dieksklusikan dari kelompok penelitian sekitar 5-7 ekor tikus dari 30 tikus betina maupun jantan dikarenakan faktor yang tidak dapat diprediksi sebelumnya.

Pada penelitian ini untuk mengetahui seberapa besar pengaruh dosis kefir susu sapi terhadap berat plasenta tikus, maka perlu dilakukan uji regresi sederhana. Pada uji regresi ini, didapatkan hasil R square yaitu sebesar 0,526 atau dapat diartikan bahwa presentase 52% dari pemberian kefir susu sapi dapat mempengaruhi kenaikan berat plasenta tikus, sedangkan pada 48% dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor lainnya.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap peningkatan berat plasenta pada tikus bunting yang telah terpapar asap rokok. Salah satu zat toksik yang berbahaya bagi kehamilan adalah radikal bebas. Efek dari radikal bebas menyebabkan kadar MDA meningkat dan akan terjadi kerusakan sel plasenta dengan memicu terjadinya peningkatan peroksidasi lemak sehingga ikut berdampak pada kematian sel.

Pada penelitian ini menggunakan 25 sampel dan dibagi ke dalam 5 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol positif (K+) dengan paparan asap rokok selama 7,5 menit tanpa kefir, kelompok kontrol negatif (K-) dengan tanpa asap rokok maupun tanpa kefir, kelompok perlakuan 1 (P1) dengan kefir dosis 0,375 ml/200grBB tikus dan asap rokok, kelompok perlakuan 2 (P2) dengan kefir dosis 0,75 ml/200grBB tikus dan asap rokok, kelompok perlakuan 3 (P3) dengan kefir dosis 1,5 ml/200grBB tikus dan asap rokok.

Hasil berat plasenta pada kelompok yang dipapar asap rokok mengalami penurunan secara signifikan dibandingkan dengan berat plasenta pada kelompok yang tanpa diberi kefir. Hal ini dapat terjadi dikarenakan akibat dari berbagai zat toksik maupun efek radikal bebas yang terkandung dalam asap rokok yang mempengaruhi penurunan berat plasenta .

Seperti yang diketahui bahwa asap rokok dapat mengakibatkan menurunnya aliran darah ke rahim dan uterus, karena terdapatnya kandungan nikotin dan karbonmonoksida (CO) pada asap rokok yang menyebabkan

terjadinya pengecilan diameter pada pembuluh darah plasenta maupun tali pusat bayi, sehingga akan mempengaruhi turunnya aliran darah ibu ke janin. Selain itu, hal ini dapat mengakibatkan terganggunya fungsi plasenta sehingga secara tidak langsung fungsi nutrisi ibu ke janin ikut mengalami gangguan (Manuaba, 2010). Kandungan karbonmonoksida (CO) yang terdapat pada asap rokok yang terhirup oleh ibu hamil akan terbawa melalui aliran darah ibu sehingga menyebabkan penerimaan oksigen bayi maupun plasenta menjadi berkurang, yang berarti terjadi kekurangan penerimaan nutrisi untuk bayi. Hal ini akan mengakibatkan terjadinya kematian sel karena kekurangan oksigen. Unsur CO berikatan dengan Hb sehingga menghasilkan karboksihemoglobin (COHb), yang tidak mampu membawa O<sub>2</sub> sehingga proses pelepasan O<sub>2</sub> yang terjadi menuju jaringan menjadi terbatas, dan menyebabkan hipoksia pada janin. Hipoksia pada janin dan menurunnya aliran darah menuju umbilikal akan menurunkan penerimaan nutrisi pada bayimelalui plasenta (Ahadina, 2014).

Berdasarkan grafik rerata berat plasenta yang dibahas pada kelompok perlakuan P1, P2, maupun P3 yang terdapat kecenderungan peningkatan berat plasenta pada tikus bunting yang dipapar asap rokok dan pemberian kefir susu sapi dengan dosis 1,5 ml/hari memiliki nilai berat plasenta yang paling signifikan.

Produk kefir susu sapi sendiri termasuk salah satu olahan minuman berfermentasi yang diproduksi dan diolah dari tambahan bibit kefir susu sapi (John and Sirirat, 2015). Susu sapi yang melalui proses fermentasi selama 32 jam menggunakan bibit kefir telah menunjukkan hasil yang signifikan bahwa kefir susu sapi dapat menghambat peroksidasi asam linoleik dibandingkan dengan produk susu sapi (Liu *et al*, 2005).

Aktivitas antioksidan dalam kefir merupakan zat yang berperan dalam menghambat oksidasi, mengurangi aktivitas senyawa radikal hidroksil, superoksida dan peroksida. Aktivitas antioksidan ini akan memberikan berupa atom hidrogen dari NADP sehingga nanti dapat mengurangi adanya radikal bebas di dalam tubuh yang mulai berlebihan. Efek dari kandungan antioksidan setelah pemberian kefir susu sapi mampu menurunkan peroksidasi lipid yang dapat mempengaruhi terjadinya penurunan kadar MDA (Judiono *et al*, 2011). Hal ini juga sependapat dengan penelitian oleh ahmed *et al.* (2013) yang menyebutkan bahwa di dalam kefir susu sapi terdapat berbagai komponen potensi aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dalam menghambat peroksidasi lipid yaitu sebesar 88,6%.

Kandungan antioksidan pada kefir susu sapi diduga dapat mencegah kerusakan khususnya dalam menangkap dan menetralsasi senyawa radikal bebas yang dapat memutus rantai radikal bebas. Kefir juga diteliti memiliki kemampuan antioksidan yang mirip dengan antioksidan yang terkandung dalam vitamin E dan diduga dapat berperan mencegah terjadinya kerusakan oksidatif akibat *Carbon Tetrachloride* ( $\text{CCl}_4$ ) yang diujikan ke hewan tikus putih dan menunjukkan hasil bahwa kemampuan aktivitas antioksidan pada kefir lebih efektif dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin E (Guven *et al.*, 2003). Hal ini berkaitan dengan penelitian dari Judiono *et al* (2011) yang mengatakan bahwa dengan mengkonsumsi suplementasi kefir secara signifikan dapat membantu meningkatkan kapasitas aktivitas antioksidan yang diduga bekerja melalui mekanisme dalam menghambat oksidasi, meminimalisir keberadaan radikal hidroksil, superoksida dan peroksida. Serta aktivitas antioksidan pada kefir diduga sebagai mediator dalam memberikan atom hidrogen dari NADP

(*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) sehingga mengurangi adanya radikal bebas didalam tubuh.

*Malondialdehyde* (MDA) dapat terbentuk apabila radikal bebas hidroksil seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak tersebut akan menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa toksik dan menyebabkan kerusakan pada membran sel (Asni *et al.*, 2009). Dampak secara *in vivo* dalam jangka waktu yang lama paparan nikotin yang terkandung dalam asap rokok dapat berdampak secara persisten terjadinya proliferasi sel penghambatan apoptosis, serta terjadi pada stimulasi *vascular endothelial growth factor*, dengan peningkatan kepadatan *microvesselel* (Fonseca and Moutinho, 2011).

Hal ini sejalan dengan hasil studi yang mengatakan bahwa pemberian kefir susu sapi dosis 10 ml/200gBB atau 1,5 ml/hari lebih efektif untuk membantu meningkatkan nilai berat plasenta pada ikus. Hal ini didukung dengan hasil uji korelasi pearson sebesar  $p=0,725$  atau positif cukup kuat yang merefleksikan bahwa semakin tinggi dosis kefir susu sapi yang diberikan maka akan mempengaruhi peningkatan berat plasenta tikus. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan mengenai hipotesis dari pemberian kefir susu sapi sebagai efek antioksidan dalam membantu meningkatkan berat plasenta tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok menjadi **Terbukti**.

Hal ini juga didukung dari hasil uji korelasi yang berkaitan dengan nilai R square sebesar 0,526 yang berarti bahwa terdapat 52% kefir susu sapi yang



dapat mempengaruhi berat plasenta tikus, sedangkan 48% dapat dipengaruhi oleh faktor yang lainnya salah satunya dari proteksi antioksidan endogen.

Adapun terdapatnya beberapa keterbatasan selama penelitian yaitu, proses pembuntingan yang memakan waktu cukup lama dikarenakan dalam mengetahui kebuntingan tikus hanya mengandalkan *Vaginal Plaque* dan memantau berat badan tikus setiap hari sebagai salah satu tanda kebuntingan sehingga tidak dapat menjamin mulai terjadinya kebuntingan tikus pada hari ke berapa setelah proses pengawinan.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian kefir susu sapi dengan dosis yang semakin tinggi maka akan berdampak terhadap peningkatan berat plasenta pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar bunting yang dipapar asap rokok.

#### 7.2 Saran

Adapun keterbatasan maupun kekurangan yang dimiliki selama penelitian berlangsung maka disarankan untuk:

1. Perlunya penelitian lebih lanjut terkait kefir susu sapi serta perlu adanya penambahan kelompok pemberian kefir susu sapi saja untuk mengetahui seberapa besar pengaruh dalam perubahan berat plasenta dibandingkan dengan perlakuan kefir dengan paparan asap rokok.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut terhadap kefir susu sapi dalam rentang dosis yang aman bagi janin maupun oleh ibu hamil serta tidak menimbulkan efek toksik bagi janin maupun ibu jika dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditama TY. 2006. *Tuberkulosis, Rokok dan Perempuan*. Jakarta: FKUI.
- Ahadina RZ. 2014. Hubungan lingkungan perokok dengan ibu hamil terpapar asap rokok terhadap kejadian bayi berat lahir rendah di surakarta [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Ahmed Z., Yanping W., Asif A., Salman T., Mehrun N., Hajra A. 2013. Kefir and Health: A Contemporary Perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Hal: 53: 422-434.
- Ahmed, A., Ismaiel, M., Mohamed, F., Ayman, G.K. and Naggar, E.L. 2011. Milk Kefir: Ultrastructure, Antimicrobial Activity and Efficacy on Aflatoxin B1 Production by *Aspergillus flavus*. *Current Microbiology*. 62, 1602-1609.
- Albaarri, AN dan Murti, T.W. 2003. *Analisa pH, Keasaman dan Kadar Laktosa pada Yakult, Yoghurt, Kefir dalam Proceeding Simposium Nasional Hasil-hasil Penelitian di Unika Soegijapranata, Semarang 22 Maret 2003*.
- Ambarwati. 2014. Media Leaflet dan Pengetahuan tentang Bahaya Merokok. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Hal 10 (1): 7-15.
- Armstrong, Sue., 1982. *Pengaruh Rokok Terhadap Kesehatan*. Kesehatan Populer Arcan, Jakarta.
- Asni, E., Harahap, IP., Prijanti, AR., Wanandi, SI., Jusman, SWA., Sadikin, M. 2009. Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terhadap Kadar Malondialdehid, Glutation Tereuksi, dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 59 (12): 595-600.

- Bender DA. 2009. Free Radicals an Antioxidant Nutrients. In: Murray K, Bender DA, Botham KM, et al. Eds. Harper's Illustrated Biochemistry, Ed 28th Mc Graw Hill. Lange ;482–86.
- Benowitz NL. 2010. Nicotine Addiction. The New England Journal of Medicine. 362(24):2295-303.
- Brashears, M., Gilliland, S.E. and Buck, L.M. 1998. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *Journal of Dairy Science*. 81,2103-2110.
- Britton, J., and Edwards. F. 2007. Tobacco Smoking, harm reduction, and nicotine product regulation. *Lancet* 317 (9610) :441-445.
- Cadwell, E. 2001. *Berhenti Merokok*. Yogyakarta: LkiS
- Chelchowska *et al.* 2011. The Effect of Tobacco Smoking During Pregnancy on Plasma Oxidant and Antioxidant Status in Mother and Newborn. *European Journal of Obstetric & Gynecology and Reproductive Biology*, 155, 132-136.
- Christopher M. Somers, Carole L. Yauk, Paul A. White, Craig L. J. Parfett, and James S. Quinn. 2002. Air Pollution Induces Heritable DNA Mutations. *PNAS* Vol. 99 No. 25 pp. 15904-15907.
- Cooke, J. P. 2003. Nicotine addiction through a neurogenomic prism: Ethics, public health, and smoking. *Nicotine Tob Res*. Vol. 7, No. 2.
- Costa *et al.*, 2005. Molecular evidence for an activatorinhibitor mechanism in development of embryonic feather branching. *Proc. Natl, Acad, Science* 102: 11734-11739.

- De Moreno, A., Matar, A.C., Farnworth, E. and Perdigon, G. 2006. Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. *Journal of Dairy Science*. 90, 1920-1928.
- Diniz, R.O., Garla, L.K., Schneedorf, J.M. and Carvalho, J.C.T. 2003. Study of anti-inflammatory activity of Tibetan mushroom, a symbiotic culture of bacteria and fungi encapsulated into a polysaccharide matrix. *Pharmacological Research*. 47(1), 49-52.
- Eberhardt, MK. 2001. *Reaction of Reactive Oxygen Metabolites with Important Biomolecules, In : Reactive Oxygen Metabolites. Chemistry and Medical Consequences*. CRS Press. London.
- Edward, R.F. 2006. Kefir A Complex Probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*. 2(1).
- Fahmy H.A. and Ismail A.F.M., Gastroprotective Effect of Kefir on Ulcer Induced in Irradiated Rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biologi*, 2015, 144: 85-93.
- Farnworth E.R. 2005. *Kefir – a complex probiotic*. Food Research and Development Centre, Agriculture and Agri-food Canada, St. Hyacinthe, Quebec, Canada J2S 8E3.
- Gamagita L.P., 2016, *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Naga Merah (Hylocereuspolyrhilus) terhadap Berat Badan Lahir (BBL) Tikus Bunting Strain Wistar (Rattus norvegicus) Bunting yang Terpapar Asap Rokok*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan, FakultasKedokteranUniversitasBrawijaya, Malang.
- Goldman, R dan Klatz, R. 2007. *The New Anti-Aging Revolution*. Malaysia: Printmate Sdn. Bhd. p. 19-25.

- Guven A., and M Gulmez. (2003). The Effect Of Kefir On The Activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH And LPO Level In Carbon Tetrachloride-Induced Mice Tissue. *J Vet Med*, 50(8):412-16.
- Halliwel B. dan Gutteridge J.M.C. Free Radicals and Antioxidant in the Year 2000. *A Historical Look to The Future*, 2000, 899: 136-147.
- Halliwell, B. and Whiteman, M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture. *British Journal of Pharmacology*, 142: 231-255.
- Hedrich H.J. 2006. Taxonomy and Stock and Strains. *J.Lab Rat*. 71-92.
- Hidayat, Nur, Padaga, Masdiana C.,Suhartini, Sri. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Hyde, D. 2009. *Introduction to Genetics Principles*. Boston: McGraw-Hill. p. 764-767.
- Irnawati, Risiko Terjadinya Bayi Berat Lahir Rendah Pada Ibu Hamil Perokok Pasif. Di Kota Banda Aceh. 2007
- 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.
- John, Stephen Moses dan Sirirat Deeseenthum. 2015. *Properties and Benefit of Kefir A Review* : 37 (3): 275-282.
- Judiono D and Hadisaputro S. Effects of Oral Clear Kefir Probiotics on Glycemic Status, Lipid Peroxidation, Antioxidative Properties of Streptozotocin Induced Hyperglycemia Wistar Rats. *Gizi Indonesia*, 2011, 34(1).

- Kwon, CS., Park, MY., Cho, JS., Choi, ST. and Chang, DS. 2003. Identification of effective microorganisms from kefir fermented milk. *Food Science and Biotechnology*. 12, 476-479.
- Liu J.R., MJ Chen, Lin CW. 2005. Antimutagenic and Antioxidant Properties of Milk Kefir and Soymilk Kefir. *J. Agric Food Chem* ; 53(7).
- Manuaba I. A. C., I. B. G. Fajar M. 2010. *Ilmu Kebidanan Penyakit Kandungan*. Jakarta: EGC
- Mardjun, Y. 2012. *Perbandingan Keadaan Tulang Alveolar Antara Perokok dan Bukan Perokok* [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasannudin
- Marks, D. B., Marks, A. D., & Smith, C. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta: EGC.
- Marnett *et al.*, 2000. Effects of Prototypical Microsomal Enzyme Inducers on Cytochrome P 450 Expression in Cultured Human Hepatocytes. *Drug Metabolism and Disposition*. Vol. 31, No.4.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. 2009. *Biokimia harper (27 ed)*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Natamiharja & Butar. 2001. Kebiasaan merokok dan karies gigi Spesifik pada sopir-sopir di medan. *Dentika Dent J*, 6: 284-289.
- Otles S dan Ozlem Cagindi. 2003. Kefir: A Probiotic Dairy-Consumption, Nutritional dan Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2): 54-59.
- Paucean, A. and Carmen, S. 2008. Probiotic activity of mixed cultures of kefir's lactobacilli and non-lactose fermenting yeasts Bulletin UASVM, *Agriculture*. 65(2).

- Pignot J. 1987. Quantification and chemical markers of tobacco exposure. *Eur J Resp Dis*, 70:1-7.
- Prawirohardjo S. 2009. Ilmu kebidanan. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Rattray, F.P. and Connell, M.J. 2011. Fermented Milks Kefir. In: Fukay JW, editor. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2th ed. Academic Press; San Diego, U.S.A., pp. 518- 524.
- Reynier, M.O., Montet, J.C., Gerolami, A., Marteau, C., Crotte, C., Montet, A.M. and Mathieu, S. 1981. Comparative effects of cholic, chenodeoxycholic & ursodeoxycholic acids on micellar solubilization and intestinal absorption of cholesterol. *Journal of Lipid Research*. 22, 467-473.
- Ridwan, E.2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *J Indon Med Assoc*. 63(3).
- Riskesdas. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*, Badan dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI, Jakarta.
- Rodrigues, K.L., Caputo, L.RG., Carvalho, J.C.T., Evangelista, J. and Schneedorf, J.M. 2005. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 25, 404-408.
- Samsuria. *Efek Asap Rokok pada Tikus (Rattus norvegicus) Bunting terhadap Tampilan Fisiologis Induk dan Anaknya Setelah Dilahirkan*. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor. 2009; Hal 18-20.
- Sandra. E. 2013. No fear of kefir. Benefits, love stories about kefir. Available from: <http://www.benefitsofkefir.com>. [Mei, 2018].
- Schneedorf, J.M and Anfiteatro, D. 2004. Kefir, A probiotic produced by encapsulated microorganism and inflammation. In *Anti-inflammatory*



Phytotherapics (Portuguese), JCT. Carvalho, editor. Tecmed, Brazil, pp, 443-467.

Sitepoe, M. 2000. *Kekhususan Rokok Indonesia*. Jakarta: Gramedia Widiasarana Indonesia.

Solimun. 2001. Diktat Metodologi Penelitian LKIP dan PKM Kelompok Agrokompleks. Universitas Brawijaya, Malang.

Suryohudoyo, P. 2007. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta : CV. Infomedika. p. 31-46.

Syamsuddin. 2014. Asap Rokok dan Ruangan Ber-AC. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Diagnosis*. Vol. 4 (No.2): hal 138.

Syaputro, R Agung. 2009. *Survey tentang Kadar Malondialdehid (MDA) Darah sebagai Indikator Terjadinya Stres Oksidatif*. (<http://dalilskripsi.com/content/view/10/> ). Diakses 11 Mei 2017. Abstract.

Tamai, Y., Yoshimitsu, N., Watanabe Y., Kuwabara, Y and Nagai, S. 1996. Effects of milk fermented by culturing with various lactic acid bacteria and a yeast on serum cholesterol level in rats. *Journal of Fermentation and Bioenergy*. 81, 181-182.

Triswanto, S. 2007. *Stop Smoking*. Yogyakarta : Progresif Books. Hal 12-35.

Usmiati, S. Kefir Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor*, 2007, 29(2) :12-14.

Valavanidis, T. 2009. 8-OHdG: A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health. Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*.

Valko *et al.*, 2006. Genes and Population. In I.D. Young (Eds), *Medical Genetics*, 1st Edition, (p. 136-151). New York: Oxford University Press, Inc.

- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., dan Telser J., Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2007, 39: 44-84.
- Wang N., Tikellis G., Sun C., Pezic A., Wang L., Wells J. 2014. The Effect of Maternal Prenatal Smoking and Alcohol Consumption on The Placenta-to-Birth Weight Ratio. *Placenta*, 35: 437-441.
- Widodo MA. 2006. *Pajanan Asap Rokok Kretek pada Tikus Putih sebagai Model untuk Manusia*. Disertasi. Tidak Diterbitkan. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wiryowidagdo, sumali. Murray KR, Granner KD, Rodwell WV. 2009. *Biokimia Harper*. Edisi ke-27. Jakarta: ECG.
- 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. Chemistry of Buttermilk Solid Antioxidant Activity. *J. Dairy Sci*, 2003, 86(2).