

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Kelapa adalah tanaman yang banyak dikenal masyarakat dan tumbuh serta mudah ditemukan di Indonesia mulai dari Sabang sampai Merauke. Sudah banyak pusat produksi kelapa yang menyebar di seluruh Indonesia. *Virgin Coconut Oil (VCO)* merupakan salah satu hasil produk dari modifikasi kelapa yang memiliki nilai jual cukup tinggi serta banyak manfaat bagi tubuh.<sup>1</sup> Minyak kelapa murni atau VCO sangat berkembang dan diminati saat ini karena diyakini memiliki khasiat untuk kesehatan, salah satu diantaranya adalah sebagai antioksidan. *Virgin Coconut Oil* atau minyak kelapa murni memiliki salah satu kandungan yang mudah dicerna serta dioksidasi oleh tubuh untuk mencegah terjadinya penimbunan di dalam tubuh, kandungan tersebut adalah asam lemak rantai sedang. Di samping itu, VCO juga memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi seperti *tokoferol, flavonoid dan betakaroten*.<sup>2</sup> Secara tampilan fisik, VCO berwarna bening atau agak jernih dan tidak mudah berbau tengik. Kandungan utama yang dimiliki VCO ialah 92% asam lemak jenuh diantaranya asam miristat (16,31%), asam laurat (48,74%), asam kaprilat (10,91%), asam kaprat (8,10%) dan asam kaproat (1,25%) dimana akan diubah menjadi monolaurin dan monocaprin oleh tubuh yang akan bersifat sebagai anti jamur, anti bakteri dan anti virus. Selain itu, VCO memiliki kandungan antioksidan seperti *polifenol, fenol dan triacylglycerol* yang sangat tinggi juga.<sup>3</sup>

Antioksidan berperan sebagai inhibitor dalam mekanisme oksidasi dimana kandungan di dalamnya bekerja dengan mengubah

radikal bebas menjadi *less reactive spesies* oleh *radical scavengers* yang berfungsi dalam menurunkan peningkatan ROS. Proses oksidasi yang terjadi di dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas yang akan memicu reaksi berantai. Akibat dari adanya reaksi berantai tersebut maka sel di dalam tubuh akan rusak, kemudian disinilah peran antioksidan langsung bekerja sesaat setelah radikal bebas masuk untuk menghambat reaksi berantai tersebut. Antioksidan terdiri dari kandungan *flavonoidan, phenol dan endogenous metabolites*.<sup>4</sup> Senyawa flavonoid dan fenol dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan dan dapat meredam radikal bebas khususnya *reactive oxygen species (ROS)*. Fenol adalah sekelompok fitokimia dengan potensi efek meningkatkan kesehatan. Mereka diklasifikasikan sebagai flavonoid (flavonol, isoflavon, dan antosianin) dan molekul non-flavonoid (asam fenolik, asam hidroksisinamat, lignan, stilben, dan tanin).<sup>5</sup> Oleh karena itu, VCO memiliki aktivitas antioksidan untuk bertahan terhadap stres oksidatif ini agar dapat menangani stres dengan lebih baik.<sup>6</sup> Adapun sumber antioksidan yang dibutuhkan oleh tubuh diantaranya adalah vitamin C, vitamin E dan vitamin A. Vitamin C, E dan A ini dapat larut dalam lemak kemudian bekerja sebagai antioksidan serta penangkal radikal bebas di lingkungan lipofilik.<sup>7</sup>

Salah satu penyumbang ROS terbesar adalah asap rokok dan dapat menimbulkan berbagai penyakit.<sup>8</sup> Pada asap rokok terkandung 4000 senyawa kimia berbahaya diantaranya yaitu tar, nikotin, khusus pada rokok kretek mengandung *eugenol, karbon monoksida (CO), fenol, amonia, piren, formaldehit, dan nitrosamin*. Nikotin, bahan aktif dalam tembakau, sangat adiktif, mengakibatkan penggunaan tembakau yang berkelanjutan. Penggunaan tembakau dibagi menjadi produk tembakau dibakar dan tidak dibakar. Adapun produk tembakau yang

penggunaannya dibakar meliputi : rokok, cerutu, cigarillo, cerutu kecil, pipa air (hookah), dan pipa sedangkan produk tembakau yang penggunaannya tidak dibakar termasuk rokok elektronik (*vape*) dan formulasi tembakau yang dikembangkan untuk dikunyah, dicelupkan, atau dihisap.<sup>9</sup> Pada tahun 2018 World Health Organization (WHO) menunjukkan ada sekitar 30% atau setara dengan 17,3 juta orang di dunia meninggal akibat merokok, dimana 890 ribu meninggal sebagai perokok pasif dan sisanya meninggal sebagai perokok aktif.<sup>10</sup> Dan dari data WHO pada tahun 2020 ditemukan sekitar 225.700 orang di Indonesia meninggal akibat merokok.<sup>11</sup> Untuk wilayah Sumatera Utara sendiri berdasarkan data Badan Pusat Statistik tahun 2021 dengan rentan usia diatas 15 tahun keatas ditemukan ada 27,24% orang yang meninggal akibat merokok.<sup>12</sup> Beberapa penelitian menyatakan bahwa merokok dapat memengaruhi komponen-komponen darah, misalnya eritrosit, leukosit dan trombosit.<sup>13</sup>

Kemajuan teknologi dapat memicu berbagai dampak negatif diantaranya pencemaran. Pencemaran yang menjadi pusat perhatian dan paling banyak merugikan adalah pencemaran udara oleh asap, baik dari rokok maupun kendaraan bermotor. Terkhususnya masalah merokok yang banyak menciptakan masalah kesehatan serta menyebabkan berbagai penyakit bagi masyarakat nasional maupun internasional. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Slamet Triyono, dkk mereka menyimpulkan bahwa sebagian besar dari responden yang bekerja sebagai ibu rumah tangga yang merupakan perokok pasif berisiko memiliki kadar hemoglobin lebih rendah.<sup>14</sup> Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari, dkk yang mendapat kesimpulan yaitu perbedaan rata-rata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang dipapar rokok dengan dosis 4

batang selama 28 hari lebih rendah dibandingkan yang dipapar 1 batang rokok.<sup>15</sup> Dalam penelitian Ni Kadek Nova Anggarani, dkk menyebutkan bahwa pada asap rokok mengandung zat berbahaya salah satunya adalah radikal bebas. Asap rokok yang terhirup akan menimbulkan ROS dan dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh sehingga menyebabkan stress oksidatif bagi eritrosit.<sup>16</sup> Dan dalam penelitian Maria Ludya Pulung, dkk mendapat kesimpulan bahwa minyak kelapa murni (VCO) sangat potensial digunakan sebagai antioksidan dan antibakteri alami.<sup>17</sup> Pemaparan akibat radikal bebas yang berasal dari asap rokok berdampak kepada eritropoesis dan menurunkan status antioksidan dari eritrosit tersebut, sehingga membran dari eritrosit akan mudah lisis. Stress oksidatif pada eritrosit ini akan menyebabkan hemoglobin terlepas ke dalam plasma yang membuat jumlah hemoglobin dalam darah akan berkurang. Pengaruh dari radikal bebas tersebut dapat dinetralisir atau ditekan melalui pemberian antioksidan.<sup>18</sup>

Salah satu produk olahan dengan kandungan antioksidan yang sedang dikembangkan dan dapat dengan mudah ditemukan serta diminati oleh masyarakat saat ini adalah *Virgin Coconut Oil (VCO)*.<sup>17</sup> Di Indonesia sendiri penelitian mengenai efektivitas pemberian VCO sudah banyak diteliti diantaranya sebagai antibakteri, antivirus, antiprotozoa dan meningkatkan imunitas terhadap berbagai penyakit. Ditambah lagi kandungan VCO memiliki sejumlah komponen kimia yang berupa vitamin E, tokoferol, asam fenolat (fraksi polifenol), sterol dan betakaroten yang diteliti berfungsi sebagai antioksidan.<sup>19</sup>

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk meneliti bagaimana pengaruh pemberian VCO terhadap kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tikus putih jantan galur wistar yang dipapar asap rokok selama 28 hari.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh pemberian VCO terhadap kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tikus putih jantan galur wistar yang dipapar asap rokok?

## **1.3 Hipotesis**

Pemberian VCO berpengaruh terhadap kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tikus putih jantan galur wistar yang dipapar asap rokok.

## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui bagaimana pemberian VCO berpengaruh sebagai antioksidan terhadap kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tikus putih jantan galur wistar yang dipapar asap rokok.

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui bagaimana pengaruh paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin tikus putih jantan galur wistar.
2. Mengetahui bagaimana pengaruh paparan asap rokok terhadap jumlah eritrosit tikus putih jantan galur wistar.
3. Mengetahui dosis optimal VCO untuk mencegah penurunan kadar hemoglobin tikus putih jantan galur wistar yang dipapar asap rokok.
4. Mengetahui dosis optimal VCO untuk mencegah penurunan kadar eritrosit tikus putih jantan galur wistar yang dipapar asap rokok.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **1.5.1 Bagi Peneliti**

Menambah pengetahuan dan pengalaman dalam melakukan penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah, terkhususnya mengenai penelitian eksperimental preklinik pada hewan uji yaitu tikus putih jantan galur wistar serta memperluas wawasan mengenai bahaya rokok terhadap kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit dalam darah.

### **1.5.2 Bagi Instansi**

Menambah referensi di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan, sehingga penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan penelitian lebih lanjut dan tambahan bahan bacaan bagi peneliti yang lain.

### **1.5.3 Bagi Masyarakat**

Hasil penelitian ini dapat memberi dan menambah informasi atau wawasan kepada masyarakat mengenai pengaruh pemberian VCO sebagai antioksidan terhadap kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit serta bahaya rokok terhadap kesehatan.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Deskripsi Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Tikus putih merupakan hewan mamalia yang banyak dikembangbiakkan dan digunakan sebagai model uji pada penelitian eksperimen di tingkat preklinik. Terdapat tiga galur tikus yang biasa digunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian yaitu galur *Sprague-Dawley*, Galur Wistar dan Galur *Long evans*. Diantara ketiga galur tersebut yang paling sering digunakan dalam penelitian ialah galur wistar dan *sprague-dawley*. Tikus putih memiliki nama lain yaitu *Rattus novergicus* dengan taksonomi sebagai berikut :<sup>20</sup>

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Chordata
Subphylum	:	Vertebrata
Class	:	Mamalia
Family	:	Muridae
Genus	:	Ratus
Spesies	:	<i>Rattus novergicus</i>

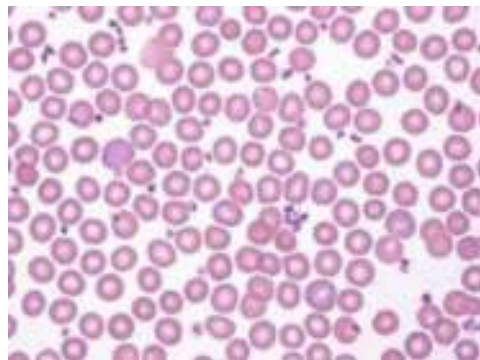


Gambar 2.1 Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galur Wistar

### 2.1.1 Karakteristik Biologis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*) Sebagai Hewan Uji

Tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar merupakan hewan uji yang banyak digunakan sebagai hewan percobaan karena hewan ini mudah ditemukan dengan harga jual yang terjangkau, mudah beradaptasi serta memiliki kemampuan metabolisme yang relatif cepat dibandingkan tikus lain sehingga lebih sensitif bila digunakan dalam penelitian eksperimental. Tikus putih jantan lebih banyak digunakan dibandingkan tikus putih betina dengan alasan tikus putih jantan tidak mengalami perubahan seperti siklus estrus yang dialami oleh mamalia betina sehingga lebih mudah dikendalikan dan memiliki hasil sampel yang homogen.<sup>21</sup>

Umumnya tikus putih memiliki jumlah eritrosit sebanyak  $7 \times 10^7$  sampai  $11 \times 10^6$  / $\mu$ L dan untuk kadar hemoglobin pada tikus putih berkisar antara 11.6-16.1 g/dL.<sup>22</sup> Dimana kadar sel darah merah pada tikus putihbetina lebih tinggi dibandingkan sel darah merah pada tikus putih jantan.<sup>23</sup>



Gambar 2.2 Eritrosit Tikus (Pewarnaan Wright Perbesaran 1000x).<sup>24</sup>

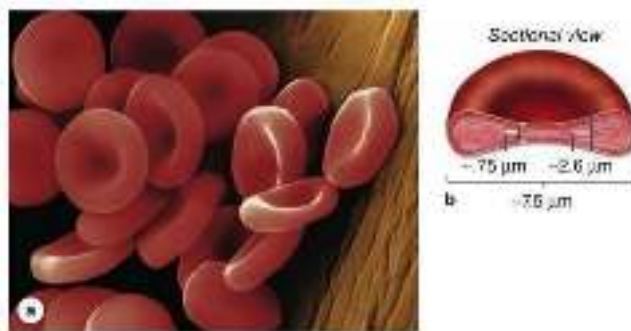


## 2.2. Eritrosit

### 2.2.1 Struktur Eritrosit

Eritrosit atau yang sering disebut sebagai *red blood cells* merupakan sel darah merah yang keberadaannya paling banyak ditemukan dalam tubuh dengan perkiraan sekitar 38-48%. Eritrosit sendiri memiliki bentuk cakram bikonkaf fleksibel dengan diameter sekitar  $\pm 7,5 \mu\text{m}$ , beredar di dalam darah tepi (*life span*) sekitar 120 hari dan jika sudah mengalami penuaan akan dikeluarkan melalui sistem retikuloendotlial. Lamanya usia sel darah merah manusia berbeda dengan tikus, dimana sel darah merah pada tikus hanya bertahan sekitar 56 sampai 69 hari.<sup>24</sup> Apabila eritrosit sudah mengalami destruksi sebelum waktunya hal ini disebut sebagai proses hemolisis yang ditandai dengan hancurnya eritrosit <120 hari. Eritrosit memiliki 3 komponen yaitu membran eritrosit, sistem enzim seperti piruvat kinase dan enzim *glucose 6 phosphate dehydrogenase* (G6PD) serta hemoglobin yang berfungsi sebagai alat angkut oksigen.<sup>25</sup>

Perubahan pada struktur eritrosit pada tubuh seseorang dapat menimbulkan berbagai kelainan seperti membranopati, enzimopati dan hemoglobinopati. Nilai normal eritrosit pada pria 4,7-6,1 juta/ $\mu\text{L}$  dan wanita 4,2-5,4 juta/ $\mu\text{L}$ . Bayi Baru lahir 4,8-7,1 juta/ $\mu\text{L}$ , usia 2-8 minggu 4-6 juta/ $\mu\text{L}$ , usia 2-6 bulan 3,5-5,5 juta/ $\mu\text{L}$ , 6 bulan – 1 tahun 3,5 – 5,2 juta/ $\mu\text{L}$ , 1-18 tahun 4-5,5 juta/ $\mu\text{L}$ .<sup>26</sup>



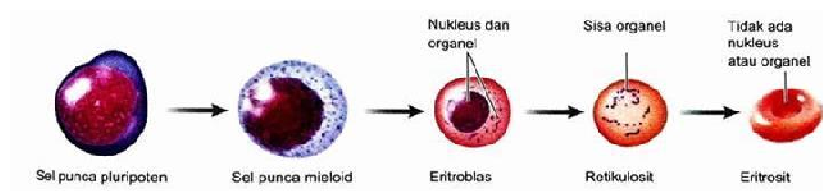
Gambar 2.3 Eritrosit Normal Manusia.<sup>27</sup>

### 2.2.2 Proses Pembentukan Eritrosit (Eritropoesis)

Pada masa perkembangan intrauterus eritrosit awalnya dibentuk di embrio tepatnya pada *yolk sac*. Lalu pada bulan ke tiga eritrosit dihasilkan di hati dan limfa sampai sumsum tulang di bulan ke tujuh pada masa perkembangan janin terbentuk dengan sempurna dan menjadi tempat produksi eksklusif eritrosit setelah hati dan limfa. Tetapi pada masa lanjutan pertumbuhan anak sumsum tulang merah yang menghasilkan eritrosit akan berkurang dan hanya tersisa di beberapa tempat seperti sternum dan ujung aras tulang panjang extremitas.<sup>28</sup>

Proses eritropoesis normalnya berlangsung selama 7 hari dan dalam proses pembentukannya eritrosit memerlukan sel induk (normoblast), besi, vitamin B12, asam folat, dan protein sebagai bahan pembentuk eritrosit, kemudian mekanisme regulasi yang terdiri atas faktor pertumbuhan hemopoetik dan hormon eritropoetin.<sup>27</sup>

Dalam keadaan normal sumsum tulang juga dapat memproduksi leukosit dan trombosit dan tidak hanya menghasilkan eritrosit. Hal ini karena adanya sel punca pluripoten yang terdapat dalam kandungan sumsum tulang yaitu sebuah sel yang secara terus menerus berdiferensiasi dan membelah diri untuk memproduksi berbagai macam sel. Sumsum tulang dapat memproduksi sel darah merah baru dengan proses menyamai kecepatan kerusakan sel tua untuk kemudian dialirkan oleh kapiler darah dan di edarkan ke seluruh tubuh proses inilah yang dinamakan sebagai eritropoesis.<sup>28</sup>



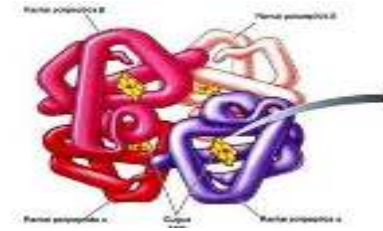
Gambar 2.4 Proses Eritropoesis.<sup>28</sup>

## 2.3 Hemoglobin

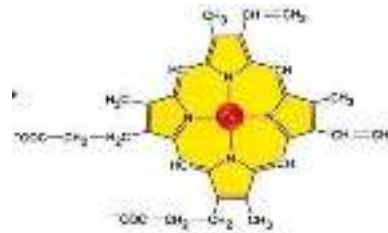
### 2.3.1 Struktur Kimia Hemoglobin

Hemoglobin atau sering disingkat dengan Hb merupakan bagian dari eritrosit yang banyak mengandung protein terutama zat besi dan terdiri dari dua gugus kata yaitu *heme* dan *globin*. Dimana heme merupakan gugus non-protein dan merupakan penggabungan dari besi dengan protoporfirin sedangkan globin adalah gugus protein yang memiliki 4 gugus rantai yaitu 2 rantai  $\alpha$  dan 2 rantai  $\beta$ .<sup>25</sup> Hemoglobin dibentuk di sumsum tulang yang memiliki 141 hingga 146 kandungan asam amino.<sup>29</sup> Dan memiliki kemampuan untuk berikatan dengan oksigen dan bertindak sebagai transpor oksigen di dalam darah secara reversible.<sup>30</sup>

Setiap manusia memiliki nilai kadar hemoglobin yang bervariasi. Hal ini bisa dikarenakan oleh genetik serta faktor lingkungan. Selain itu, faktor usia, jenis kelamin, dan faktor resiko seperti pola hidup yang kurang baik contohnya adalah diet berlebihan dan kaitanya dengan kebiasaan merokok, berat badan serta penyakit-penyakit infeksi lain juga dapat mempengaruhi kadar hemoglobin dalam darah seseorang. Normalnya pria memiliki kadar hemoglobin 13,8-17,2 g/dL sedangkan wanita 12,1-15,1 g/dL. Pada anak, kadar hemoglobin berbeda-beda. Seperti pada bayi baru lahir kadar hemoglobinnya bernilai 14-24 g/dL sedangkan pada anak-anak berkisar 9,5-13 g/dL.<sup>31</sup>



Gambar 2.5 Molekul Hemoglobin.<sup>28</sup>



Gambar 2.6 Gugus Hem Yang Mengandung Besi.<sup>28</sup>

### 2.3.2 Fungsi Hemoglobin

Hemoglobin memiliki fungsi utama yaitu transport O<sub>2</sub> dari paru-paru keseluruhan jaringan tubuh. Selain fungsi utama tersebut, hemoglobin juga memiliki fungsi lainnya antara lain :<sup>28</sup>

- Mempertahankan bentuk sel darah merah.
- Mengatur pertukaran karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) di dalam jaringan tubuh.
- Penyangga ion hidrogen (H<sup>+</sup>) dari asam karbonat yang kerjanya mempertahankan Ph di dalam darah.
- Membantu mengikat karbon monoksida (CO) apabila terdapat di dalam darah. Apabila terhirup akan menyebabkan tubuh keracunan CO.
- Membawa vasodilatornya sendiri yaitu nitrogen monoksida (NO). Dimana nitrogen monoksida bersifat sebagai vasodilator, kemudian berikatan dengan hemoglobin dan dilepaskan ke jaringan.<sup>32</sup>

## 2.4 Rokok

### 2.4.1 Definisi Asap Rokok

Rokok merupakan salah satu produk tembakau dengan cara konsuminya dapat dibakar lalu dihisap ataupun dihirup asapnya termasuk seperti rokok putih, rokok kretek, *vape* dan cerutu yang bersumber dari *tanaman nicotiana tabacum*, *nicotiana rustica* dan spesies lainnya dimana kandungan asapnya memiliki unsur tar dan nikotin dengan atau tanpa zat tambahan. Rokok juga memiliki kandungan zat adiktif dimana pengertian zat adiktif sendiri adalah zat yang berbahaya dan membuat pengguna merasa terikat yang ditandai dengan perubahan tingkah laku, mental dan karakteristik fisiologis yang tidak terkendali, dorongan yang kuat untuk mengonsumsi bahan-bahan ini dan kesulitan dalam mengontrol penggunaannya.<sup>33</sup>

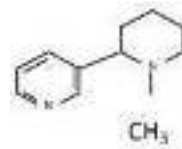
### 2.4.2 Kandungan Dalam Asap Rokok

Rokok yang dihisap mengandung lebih kurang 4000 jenis bahan kimia dan 200 di antaranya bersifat racun. Adapun tiga kandungan utama rokok adalah pertama Nikotin yang merupakan zat yang paling berbahaya, kedua Tar dan ketiga adalah Karbon Monoksida (CO).<sup>34</sup>

#### a. Nikotin (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>)

Nikotin dengan struktur kimia *C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>* merupakan senyawa alkaloid yang memiliki kandungan karbon, hidrogen, nitrogen dan sedikit oksigen yang bersumber dari daun tembakau. Nikotin dapat membahayakan saraf dan bisa menyebabkan pengguna memiliki efek samping seperti rileks dan tenang sementara serta dapat mengakibatkan obesitas sehingga mudah menimbulkan penyempitan pembuluh darah. Dampaknya adalah dapat membentuk efek “ketagihan” pada perokok.

Orang dewasa yang secara konsisten menghirup asap rokok dengan kadar nikotin sebanyak 4-6 mg sudah bisa membuat pengguna merasa ketergantungan. Rokok putih yang tersedia di Indonesia memiliki kadar nikotin yang cukup tinggi yaitu 17 mg per batang berbeda dengan Amerika Serikat yang memiliki kandungan nikotin yang lebih sedikit yaitu 8-10 mg per batangnya.<sup>34</sup>



Nikotin

Gambar 2.7 Struktur Kimia Nikotin.<sup>34</sup>

#### b. Tar

Tar merupakan salah satu agen penyebab kanker karena sifatnya yang karsinogen sehingga sangat potensial mengakibatkan seseorang mengalami gangguan terutama di saluran pernafasan pada seorang yang mengkonsumsi rokok. Ketika sebatang rokok dihisap, tar akan memasuki rongga mulut sebagai asap yang menggumpal dan setelah pendinginan tar akan menjadi kuat dan terbentuklah pengendapan berwarna coklat tua yang terdapat pada lapisan gigi luar terutama pada paru-paru. Pengendapannya bisa berkisar antara 3-40 mg untuk setiap batang rokok, sedangkan kandungan tar dalam rokok berkisar antara 24-45 mg. Tar juga terdiri dari lebih dari 4000 zat sintesis dimana 60 zat sintetisnya dapat menyebabkan kanker.<sup>34</sup>

### c. Karbon Monoksida (CO)

Karbon monoksida memiliki kemampuan yang cenderung kuat untuk berikatan dengan hemoglobin dalam trombosit. Pada orang yang bukan perokok kadar gas CO dalam darah berkisar <1% sedangkan pada pengguna rokok pasif atau aktif bisa mencapai >4-15%. Pada keadaan normal hemoglobin berikatan dengan oksigen dimana oksigen sendiri adalah unsur terpenting pada proses pernafasan, akibat kadar gas CO yang lebih tinggi dibanding O<sub>2</sub> hal ini mengakibatkan gas CO mengambil alih posisi di hemoglobin.<sup>34</sup>

Selain ketiga zat utama dalam asap rokok, Kemenkes RI memaparkan beberapa kandungan yang terkandung dalam sebatang rokok, yaitu :<sup>35</sup>

- a. *Acetone* (Penghapus Cat)
- b. *Pyrene* (Pelarut Industri)
- c. *Dimethylnitrosamine* (Zat Karsinogenik)
- d. *Naphtylamine* (Zat Karsinogenik)
- e. *Methanol* (Bahan Bakar Roket)
- f. *Urethane* (Zat Karsinogenik)
- g. *Toluene* (Pelarut Industri)
- h. *Arsenic* (Racun Semut Putih)
- i. *Dibenzacridine* (Zat Karsinogenik)
- j. *Phenol* (antiseptik/pembunuh kuman)
- k. *Naphtalene* (Kapur barus)
- l. *Cadmium* (Dipakai accu mobil)
- m. *Benzopyrene* (Zat Karsinogenik)
- n. *Dibenzacridine* (Zat Karsinogenik)

- o. *Phenol* (antiseptik/pembunuh kuman)
- p. *Naphtalene* (Kapur barus)
- q. *Cadmium* (Dipakai accu mobil)
- r. *Benzopyrene* (Zat Karsinogenik)
- s. *Vinyl Chloride* (Bahan Plastik PVC)
- t. *Hydrogen Cyanide* (racun untuk hukuman mati)
- u. *Toluidine* (Zat Karsinogenik)
- v. *Ammonia* (pembersih lantai)
- w. *Butane* (Bahan Bakar Korek Api)



Gambar 2.8 Kandungan dalam sebatang rokok.<sup>35</sup>

### 2.4.3 Radikal Bebas Dalam Asap Rokok

Rokok merupakan salah satu pendonor radikal bebas terbesar berkaitan dengan segala masalah patologi yang ditimbulkannya. Radikal bebas dapat berikatan dengan lipid, protein, dan asam nukleat sehingga mengakibatkan kerusakan dan penurunan fungsi pada berbagai organ. Sumber asap rokok yang ditimbulkan dari perokok pasif maupun aktif menjadi penyebab utama terjadinya peningkatan radikal bebas didalam tubuh. Proses peningkatan radikal bebas adalah aktivasi sel inflamasi dikarenakan efek langsung asap rokok pada paru-paru sehingga akan menghasilkan *ROS (Reactive Oxygen Species)*



yang tinggi. Dimana ROS merupakan komponen utama oksidan yang ada di tubuh, dengan meningkatnya ROS maka ketidakstabilan antara oksidan dan antioksidan dapat terjadi lalu menyebabkan kerusakan sel dan sangat potensial menimbulkan stress oksidatif.<sup>36</sup>

Radikal bebas sendiri didefinisikan sebagai sebuah molekul yang memiliki banyak jumlah elektron yang tak berpasangan dan memiliki sifat yang reaktif serta tidak stabil. Setelah masuk ke dalam tubuh radikal bebas bersama dengan molekulnya tersebut akan bereaksi dan merusak jaringan yang ada di dekatnya lalu memperbanyak diri sehingga menghasilkan radikal bebas berantai yang bisa mengancam tubuh.<sup>37</sup>

## 2.5 Virgin Coconut Oil (VCO)

### 2.5.1 Definisi VCO

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan hasil produk dari modifikasi minyak kelapa, memiliki warna yang agak bening serta aroma yang harum, dan juga memiliki kandungan asam lemak yang rendah serta memiliki jangka waktu penyimpanan yang cukup lama yaitu lebih dari 12 bulan.<sup>38</sup>

Tanaman kelapa memiliki nama latin *Cocos nucifera. L* merupakan tanaman monokotil dengan taksonomi sebagai berikut :<sup>39</sup>

Kerajaan : Plantae

Subkerajaan : Tracheobionta

Super divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliphyta

Kelas : Liliopsida

Sub kelas	: Arecidae
Bangsa	: Arceles
Suku	: Arecaceae
Marga	: Cocos
Jenis	: <i>Cocos nucifera. L</i>

Ada beberapa metode dalam pembuatan VCO, diantaranya :

- a. Metode tradisional : dengan cara pemanasan umumnya pada suhu sekitar 100 - 110°C dimana kita dapat memperoleh minyak kelapa dari hasil olahan santan kelapa.
- b. Metode fermentasi : penambahan ragi merupakan alternatif yang digunakan oleh petani dan bertujuan sebagai awal pemecahan emulsi santan untuk mendapatkan VCO yang diinginkan.
- c. Metode enzimatik : enzim papain adalah bagian dari enzim proteolitik yang bekerja dengan cara menghidrolisa ikatan peptida dan mengkatalisis reaksi pemecahan protein menjadi senyawa yang lebih sederhana.<sup>38</sup>



Gambar 2.9 Kelapa Untuk Pembuatan VCO.<sup>40</sup>

## 2.5.2 Kandungan VCO

*Virgin Coconut Oil (VCO)* atau minyak kelapa murni memiliki kandungan asam lemak rantai pendek dan sedang. Dimana asam laurat merupakan asam lemak dengan konsentrasi paling tinggi yang ada didalam kandungan VCO sedangkan asam linoleat adalah asam lemak dengan konsentrasi paling rendah.<sup>41</sup>

Berikut komposisi asam lemak dalam *Virgin Coconut Oil (VCO)* :<sup>17</sup>

1. Asam Koproat ( $C_3H_{11}COOH$ ) Persentase 4-5,8%
2. Asam Kaprilat ( $C_7H_{17}COOH$ ) Persentase 5-10%
3. Asam Kaprat ( $C_9H_{19}COOH$ ) Persentase 4-5,8%
4. Asam Laurat ( $C_{11}H_{23}COOH$ ) Persentase 41-52%
5. Asam Miristat ( $C_{13}H_{27}COOH$ ) Persentase 13-19%
6. Asam Plamitat ( $C_{15}H_{35}COOH$ ) Persentase 7,5-10,5%
7. Asam Oleat ( $C_{17}H_{31}COOH$ ) Persentase 5-8%
8. Asam Linoleat ( $C_{17}H_{29}COOH$ ) Persentase 1,5-2,5%

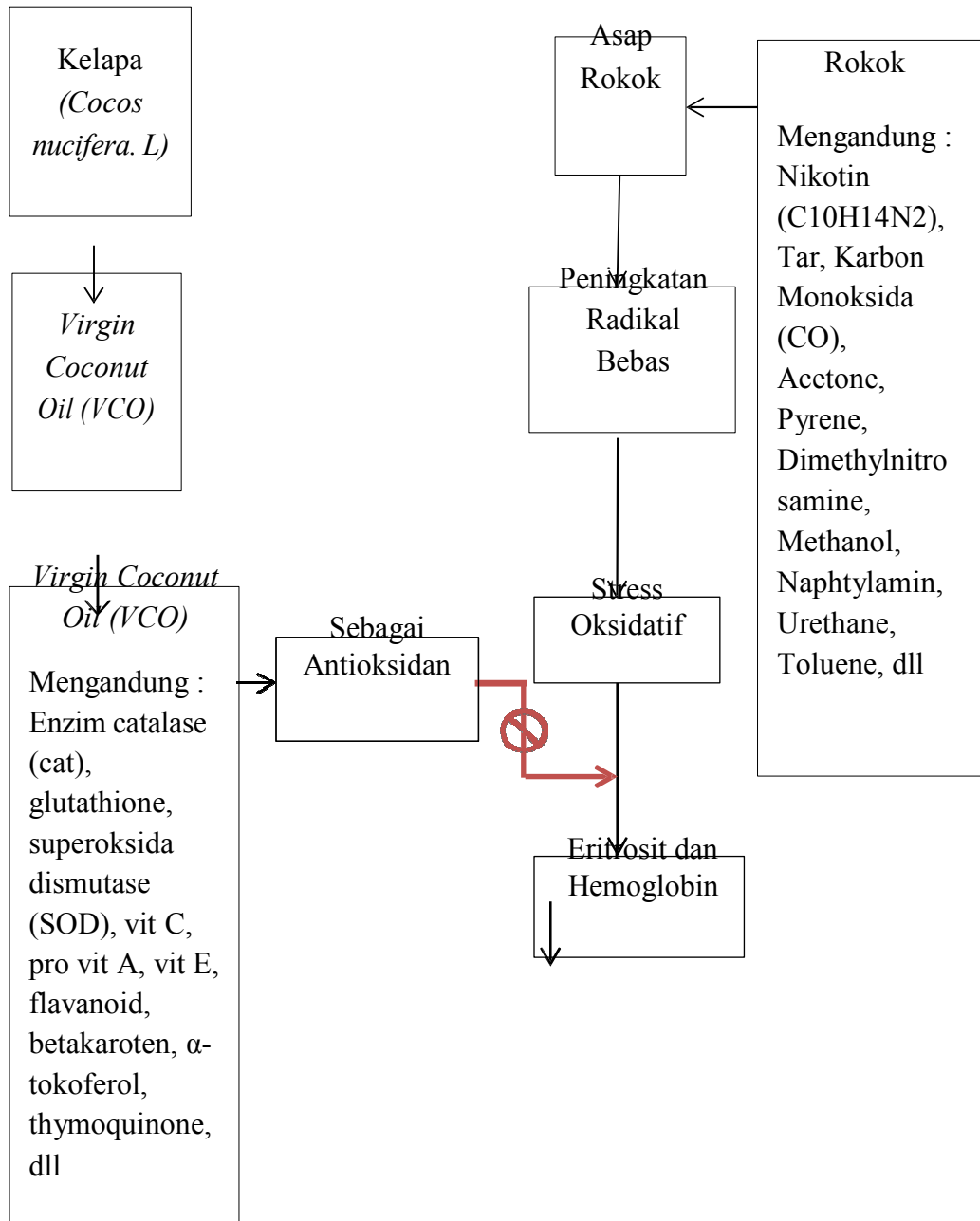
Dari komposisi asam lemak diatas, asam lemak dapat dibedakan menjadi asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak jenuh adalah asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap diantaranya adalah Asam Koproat, Asam Kaprilat, Asam Kaprat, Asam Laurat, Asam Miristat, Asam Plamitat dan Asam Strearat. Sedangkan asam lemak tak jenuh adalah asam lemak yang memiliki ikatan rangkap, adapun dua asam lemak tak jenuh yang terkandung dalam VCO ialah Asam Oleat dan Asam Linoleat.<sup>41</sup>

### 2.5.3 Peran VCO Sebagai Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menencegah radikal bebas dalam menimbulkan kerusakan pada sel normal karena sifatnya sebagai penentralisir.<sup>42</sup> Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan dan DNA dengan cara menyerang sel dalam tubuh akibatnya seseorang dapat lebih cepat mengalami proses penuaan dan menyebabkan berbagai penyakit lainnya. Tubuh kita dapat menghasilkan antioksidannya sendiri dalam bentuk enzim, dan antioksidan alami dapat kita dapatkan dari tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid, tokoferol dan asam organik yang tinggi seperti *Virgin Coconut Oil (VCO)*.<sup>43</sup>

Kandungan flavonoid dan tokoferol pada VCO inilah yang dapat menangkal radikal bebas, terutama radikal bebas oksigen (*Reactive Oxygen Species, ROS*) yang berpengaruh pada proses pembentukan sel darah merah. Dimana antioksidan pada VCO berperan menetralkan radikal bebas dengan cara mencegah stress oksidatif yang ditimbulkan akibat dari kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas tersebut dimana dalam hal ini adalah asap rokok, yang terkenal juga sebagai sebuah polutan yang menyebabkan terjadinya penurunan antioksidan endogen.<sup>44</sup> Pada jurnal penelitian Ademola C. Famurewa,dkk menyebutkan bahwa VCO mempunyai kemampuan menurunkan stress oksidatif pada beberapa hewan uji yaitu tikus dikarenakan VCO mengandung polifenol sebanyak  $61,22 \pm 2,34$  mgGAE/100g.<sup>45</sup>

## 2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.10 Kerangka Teori

## BAB 3

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan *Post Test only Control Group Design*, yaitu jenis penelitian yang melakukan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberikan suatu tindakan.

#### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

##### 3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara di Jl. Tri Dharma, Padang Bulan, Medan dan Labkesda Medan di Jl. Kenangan Baru, Percut Sei Tuan, Deli Serdang. Pada Laboratorium Farmasi dilakukan mulai dari pemeliharaan sampai dengan memberikan perlakuan terhadap hewan uji. Pada Labkesda, akan dilakukan pemeriksaan kadar haemoglobin dan jumlah eritrosit dimana setelah selesai pemberian perlakuan di Lab Farmasi USU, sampel darah diambil lalu diserahkan untuk di cek menggunakan alat *hematology analyzer* dan pembacaan hasil.

##### 3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai Desember 2022.

### 3.3 Populasi Penelitian

#### 3.3.1 Populasi Target

Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi.

### 3.4 Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

#### 3.4.1 Sampel

Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusif.

#### 3.4.2 Besar Sampel

Penentuan besar sampel dilakukan dengan penggunaan rumus Federer:

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

Keterangan :

t = Kelompok perlakuan

n = jumlah sampel untuk 1 kelompok perlakuan

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

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

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

$$\begin{aligned}
 \text{Besar sampel} &= t \times n \\
 &= 4 \times 6 \\
 &= 24 \text{ ekor tikus}
 \end{aligned}$$

Untuk mengantisipasi kemungkinan sampel yang terpilih mengalami *dropout* maka dilakukan koreksi dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

N = jumlah sampel koreksi

n = jumlah sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (f = 0,1)

$$\begin{aligned}
 N &= \frac{6}{(1-0,1)} \\
 &= \frac{6}{0,9} \\
 &= 6,666 \text{ 7}
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah tikus cadangan} &= \text{Jumlah kelompok perlakuan} \times (n^* - n) \\
 &= 4 \times (7-6) \\
 &= 4 \times 1 \\
 &= 4 \text{ ekor}
 \end{aligned}$$

Jadi, jumlah sampel keseluruhan yang digunakan di dalam penelitian ini adalah 28 ekor tikus. Keseluruhan tikus yang digunakan dibagi menjadi 4 kelompok dengan tiap kelompok terdiri dari 7 ekor (6 ekor tikus sebagai sampel perlakuan, 1 ekor tikus sebagai cadangannya).

### 3.4.3 Penentuan Jumlah Sampel Tikus

Dalam penelitian ini penulis menggunakan teknik *purposive sampling*. Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan *post-test with control group design*. Subjek pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 28 ekor, yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan jumlah tikus pada masing-masing kelompok adalah 7 ekor (6 ekor tikus sebagai sampel perlakuan ditambah 1 ekor tikus cadangan pada tiap kelompok). Adapun kelompok tersebut sebagai berikut :

- a. Kelompok kontrol negatif (P1) diberi pakan standart
- b. Kelompok kontrol positif ( P 2 ) diberi pakan standart dan dipapar asap rokok
- c. Kelompok Perlakuan 1 (P3) dipapar asap rokok dan diberi *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebanyak 0,45 ml
- d. Kelompok Perlakuan 2 (P4) dipapar asap rokok dan diberi VCO sebanyak 0,9 ml

Pemilihan dosis pada jurnal penelitian Habbatul Haqiqoh, dkk juga memakai dosis VCO secara bertingkat yaitu dosis I (kadar maksimal)  $50 \text{ ml} \times 0,018 = 0,9 \text{ ml}/200 \text{ gram}$ ; dosis II (kadar sedang)  $25 \text{ ml} \times 0,018 = 0,45 \text{ ml}/200 \text{ gram}$ ; dosis III (kadar rendah)  $12,5 \text{ ml} \times 0,018 = 0,225 \text{ ml}/200 \text{ gram}$ . Dari penelitian tersebut diperoleh kesimpulan bahwa VCO dapat membantu kerja kelenjar tiroid, ditandai oleh adanya perubahan ukuran diameter folikel tiroid. Dosis VCO yang paling baik digunakan adalah dosis maksimal yaitu 50 ml/hari, karena menunjukkan perbedaan secara signifikan dibandingkan kelompok VCO yang diberi dosis lain.<sup>46</sup>

### **3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

#### **3.5.1 Kriteria Inklusi**

1. Tikus Putih Jantan Galur Wistar dengan berat badan 150-250 gram
2. Usia tikus 2-3 bulan
3. Tikus dalam keadaan sehat dan tidak cacat

#### **3.5.2 Kriteria Eksklusi**

1. Tikus Putih Jantan Galur Wistar tampak sakit selama perlakuan
2. Gerakan dari tikus tidak aktif dari biasanya
3. Tikus mati sebelum waktunya

### **3.6 Prosedur Kerja**

Untuk mendapat gambaran secara jelas bagaimana jalannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Dilakukan proses pengajuan izin *ethical clearance* yang diajukan pada institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen.

2. Diajukan izin permohonan pelaksanaan penelitian pada laboratorium tempat penelitian.

3. Persiapan hewan uji

Dilakukan adaptasi terhadap hewan selama 1 minggu di *animal house*. Hewan uji yang dipakai sebanyak 28 ekor kemudian akan dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor dan 1 ekor cadangan yang kemudian akan di letakkan dalam satu kandang. Tikus yang digunakan akan diamati selama 28 hari.

4. Alat dan Bahan yang digunakan dalam penelitian

**Alat :**

- Sarung tangan dan seperangkat alat bedah minor
- *Smoking Chamber*
- *Smoking pump* (sprit 60cc yang dimodifikasi menjadi tabung pemompa asap rokok)
- Sonde Lambung (Untuk injeksi VCO secara oral)
- Tabung *Eppendorf* (Untuk menampung darah)
- *Container box* (Untuk penyimpanan sementara sampel darah saat dibawa ke lab)
- Alat *Blood Roller Mixer*
- Alat *Hematology Analyzer*

**Bahan :**

- *Virgin Coconut Oil* (VCO)
- EDTA (sebagai antikoagulan)
- Aquades
- Asap rokok kretek

**5. Persiapan dan pemberian VCO**

VCO yang digunakan pada penelitian ini adalah VCO merk *cocoseven*. Perhitungan dosis VCO dihitung berdasarkan ketentuan, dimana 70 kg manusia setara dengan 200 gr tikus. Maka satuan konversi yang digunakan berdasarkan tabel laurance yaitu 0,018 dan dosis optimal konsumsi VCO oleh manusia adalah 50 ml/hari. VCO akan diberikan selama 28 hari setelah pemaparan asap rokok dilakukan.

Perhitungan dosis VCO, sebagai berikut :

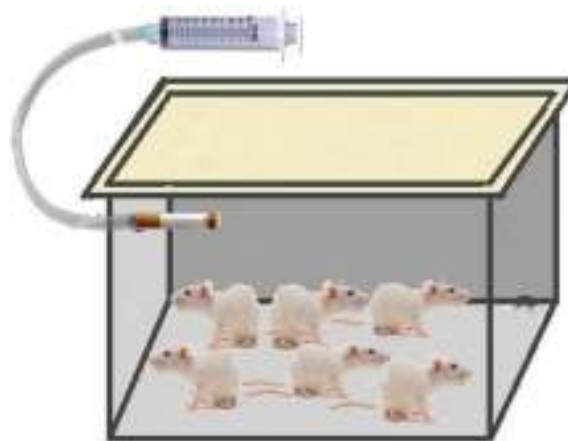
- Dosis VCO (1) = 0,45ml/hari
- Dosis VCO (2) = 50 ml x 0,018 = 0,9 ml/hari



Gambar 3.1 VCO Yang Digunakan Dalam Penelitian

## 6. Persiapan dan pemaparan asap rokok

Sebelumnya, kandang tikus akan didesain menjadi *smoking chamber* yang tidak memiliki ventilasi kecuali lubang untuk rokok, pipa dan spuit, sehingga sebagian besar dari asap rokok tersebut akan dihirup oleh tikus. Rokok yang digunakan adalah rokok kretek merk Gudang Garam. Alat yang digunakan untuk memompa asap rokok kedalam adalah *smoking pump* yang dimodifikasi dari spuit 60cc. Nantinya ujung spuit tersebut disambungkan dengan pipa yang sudah terhubung dengan rokok kretek. Kemudian asap rokok di pompa kedalam *smoking chamber* hingga 4 batang rokok habis terbakar dan ditunggu selama 10 menit. Pemaparan asap rokok Gudang Garam Merah dilakukan selama 28 hari menggunakan 4 batang per hari. Lalu setelah 28 hari dipapar asap rokok, pada hari yang ke 29 akan dilakukan pengambilan sampel darah.



Gambar 3.2 Rancangan Smoking Chamber Pada Penelitian

## 7. Pengambilan Sampel Darah dan Pembacaan Hasil

Sampel darah diambil sebanyak 1cc dari jantung tikus. Sebelum pembedahan, tikus terlebih dahulu dipuasakan selama 12 jam, setelah itu dilakukan *euthanasia* dengan cara fisik yaitu dislokasi leher dan dilanjutkan mengambil sampel darah. Proses pengambilan sampel darah dimulai dengan memposisikan tikus dengan posisi terlentang di baki pembedahan lalu menusuk kaki-kaki tikus. Kemudian dilakukan insisi *midline* pada otot dinding perut dimulai dari ujung sampai ke simfisis pubis. Setelah di insisi, dicarilah letak jantung tikus dimana berada tepat di bagian kiri dada antara costae ke-3 dan ke-4. Lalu, masukkan jarum suntik sedalam 5mm ke bagian jantung dimulai dari torak menuju dagu hingga membentuk sudut 25-30°. Darah diambil sebanyak 1cc kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000rpm selama kurang lebih 5 menit untuk memisahkan serum dengan sel darah. Setelah di sentrifugasi, sampel darah diambil dengan menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* yang berisi EDTA. Kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit diperiksa dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer*.

### 3.7 Identifikasi Variabel

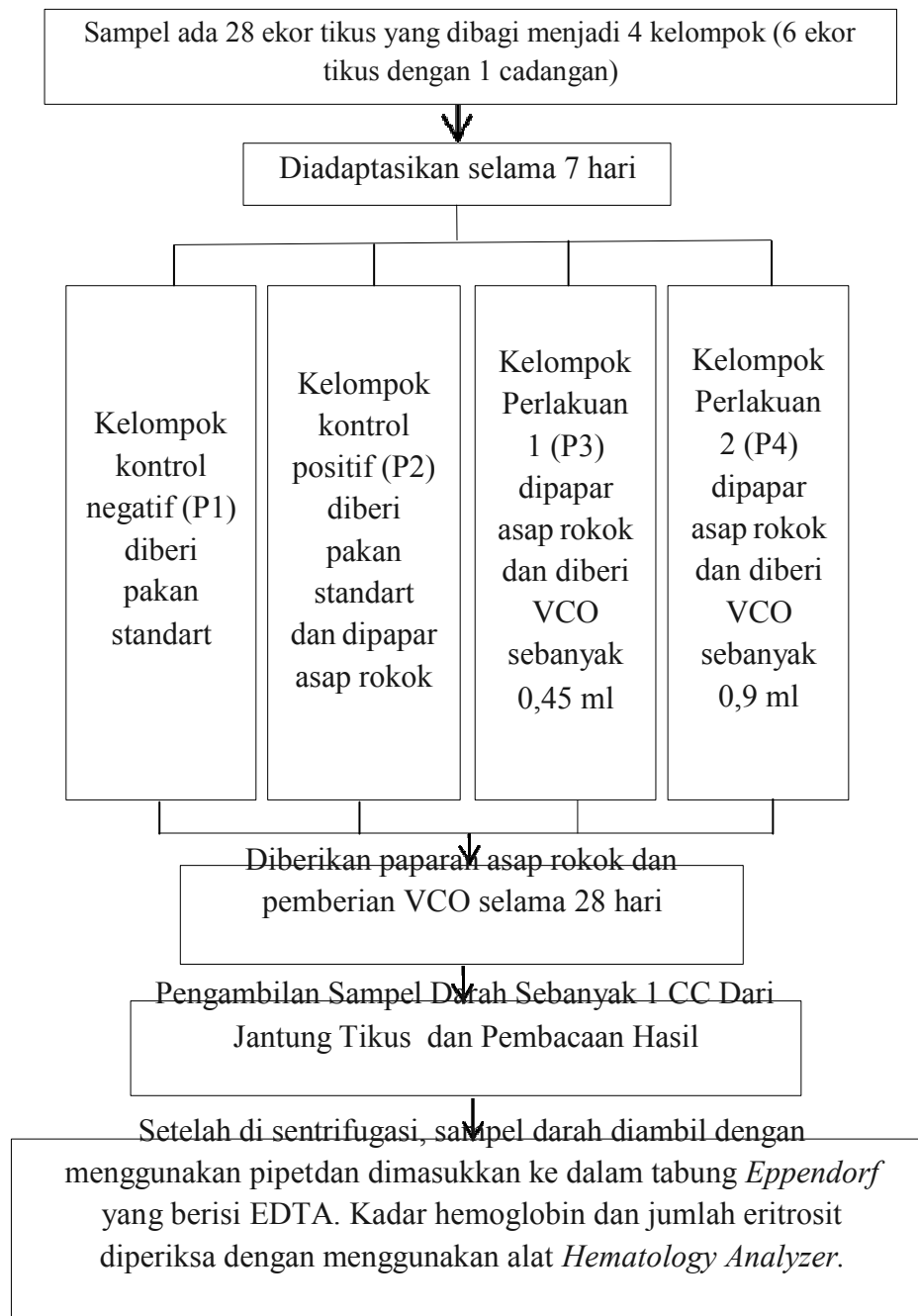
#### 3.7.1 Variabel Independen

Pemberian VCO dan pemaparan asap rokok.

#### 3.7.2 Variabel Dependen

Kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tikus putih jantan galur wistar.

### 3.7.3 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur Penelitian

### 3.8 Definisi Operasional

1	Variabel	Definisi Operasional	Alat ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Kadar Hemoglobin	Nilai hemoglobin dalam darah tikus yang sampelnya diambil jantung tikus sebanyak 1ml dan dinyatakan dalam gram/dl	Alat <i>Hematology</i> <i>Analyzer</i>	g/dL	Rasio
2.	Jumlah Eritrosit	Nilai eritrosit yang dihitung dengan mengambil sampel darah sebanyak 1 ml dari jantung tikus putih jantan galur wistar	Alat <i>Hematology</i> <i>Analyzer</i>	juta/ $\mu$ L	Rasio
3.	VCO	VCO merupakan minyak kelapa murni berwarna bening yang diperoleh melalui proses ekstraksi daging buah kelapa tanpa melewati proses pemanasan	-	ml	Rasio



---

	tinggi atau penambahan dari bahan kimia lainnya. Merk yang digunakan adalah <i>cocoseven</i>	
4. Paparan Asap Rokok	Asap rokok yang berasal dari rokok kretek yang ditiupkan sebanyak 4 batang/hari selama 28 hari dengan <i>smoking pump</i> yang terbuat dari spuit 60cc dan sudah terhubung dengan selang yang ada di <i>smoking chamber</i> .	- batang rokok /hari Nominal

---

Tabel 3.1 Definisi Operasional

### 3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan perangkat lunak komputer. Pertama dilakukan uji normalitas dengan menggunakan Uji *Shapiro-Wilk* pada data kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit. Apabila data yang diperoleh terdistribusi normal maka yang ditampilkan adalah data rerata, namun jika data yang diperoleh tidak terdistribusi normal maka data yang ditampilkan adalah data median. Selanjutnya dilakukan analisis data dengan menggunakan Uji *Oneway Anova* untuk melihat ada perbedaan kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit antar kelompok.

Apabila sebaran normal dan varian sama, digunakan Uji *Oneway Anova* dengan Post Hoc *Bonferroni*, apabila sebaran normal dan varian berbeda, digunakan Uji *Oneway Anova* dengan Uji Post Hoc *Tamhane's*. Selanjutnya dilakukan analisa *LSD* (*least significant different*) untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan.