

**PENGARUH FREKUENSI PAPARAN ASAP ROKOK
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN**
Studi Eksperimen pada Tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi Vitamin D

Skripsi

Untuk memenuhi Sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh
Ach. Izzat Hakim
30101900001

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2023

SKRIPSI

**PENGARUH FREKUENSI PAPARAN ASAP ROKOK
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN
Studi Eksperimen pada Tikus *Rattus Norvegicus*
yang diberi Vitamin D**

Dipersiapkan dan disusun oleh :

Ach. Izzat Hakim

30101900001

Telah dipertahankan didepan Dewan Penguji
Pada tanggal 6 Juli 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

dr. Arini Dewi Antari, M.Biomed

Penguji I

Dr. dr. Chodidjah M.Kes

Pembimbing II

dr. M. Saugi Abduh Sp.PD., KKV

Penguji II

Digitally signed
by dr. Menik
Sahariyani, M.Sc
Date: 2023.07.18
17:14:01 +07'00'

dr. Menik Sahariyani M.Sc.

Semarang, 13 Juli 2023
Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.FM., S.H

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

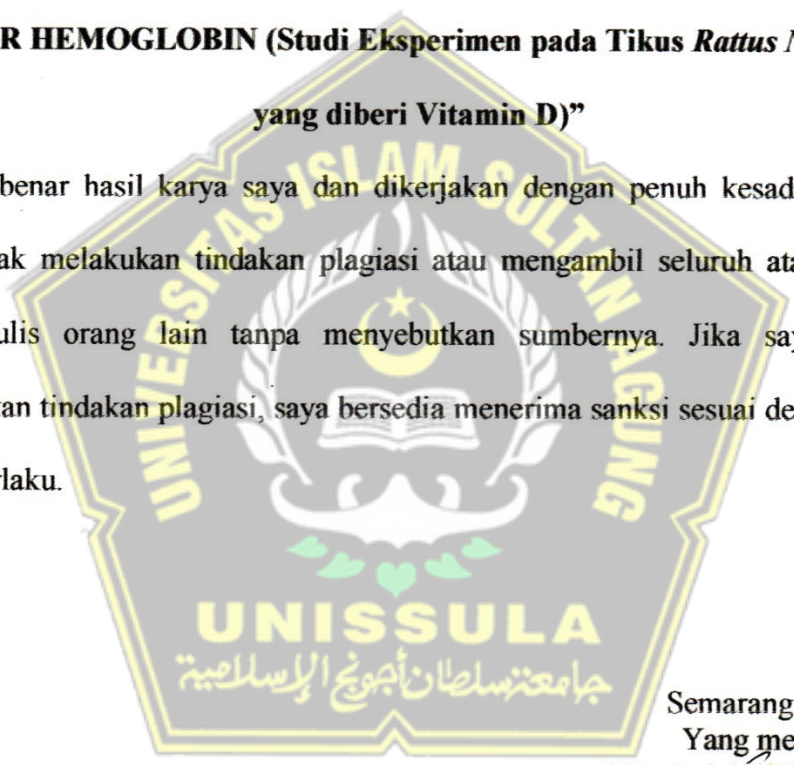
Nama : Ach. Izzat Hakim

NIM : 30101900001

Dengan ini menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul:

**“PENGARUH FREKUENSI PAPARAN ASAP ROKOK TERHADAP
KADAR HEMOGLOBIN (Studi Eksperimen pada Tikus *Rattus Norvegicus*
yang diberi Vitamin D)”**

Adalah benar hasil karya saya dan dikerjakan dengan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil seluruh atau sebagian karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.



Semarang, Juni 2023
Yang menyatakan,



Ach. Izzat Hakim

PRAKATA

Assalamualaikum Wr.Wb

Dengan memanjatkan puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala limpah Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

Skripsi yang berjudul “**Pengaruh Frekuensi Paparan Asap Rokok terhadap Kadar Hemoglobin** Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus Novergicus* yang diberikan Vitamin D” disusun untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai gelar sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Terselesaikannya penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih sebesar – besarnya kepada :

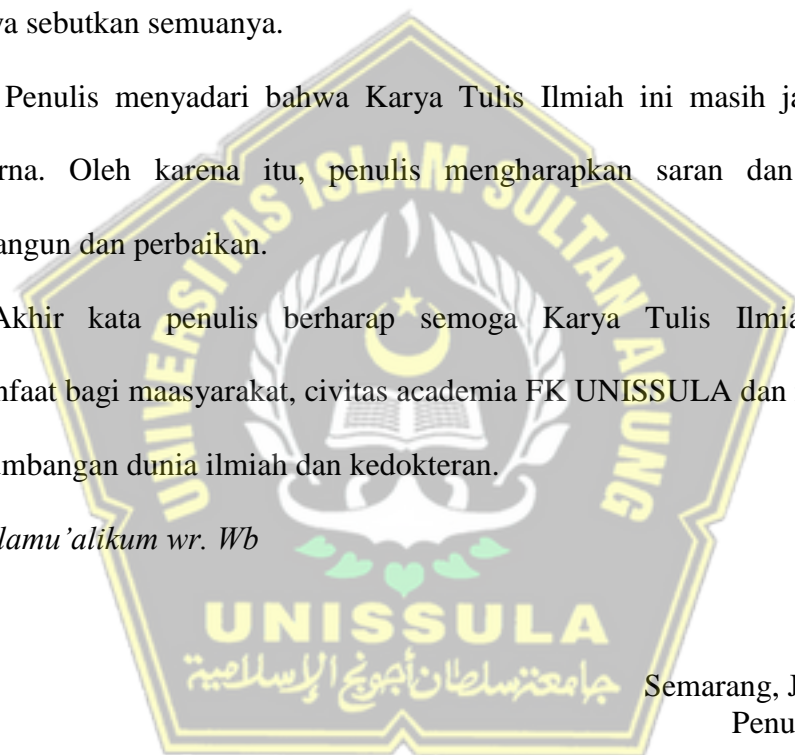
1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.FM., S.H selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Arini Dewi Antari, M.Biomed dan dr. H. M. Saugi Abduh, Sp.PD, KKV, FINASIM selaku Dosen Pembimbing yang telah sabar dan penuh kesanggupan memberikan bimbingan, saran dan dorongan sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dapat selesai.
3. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes dan dr. Menik Sahariyani M.Sc. selaku dosen penguji yang telah bersedia memberikaan waktunya dalam menguji dan memberi kritik juga saran Karya Tulis Ilmiah ini.

4. Keluarga saya tercinta yang telah memberikan doa dan dukungan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Untuk teman kelompok KTI saya, Dwi Yulianto, Nala Qothrunnada Azzahra, Alfida Fitratunissa Aldian yang memberikan motivasi dan dukungan kepada saya untuk mengerjakan skripsi ini.
6. Dan untuk teman, saudara kontrakan blue wall/singgasana yang tidak bisa saya sebutkan semuanya.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dan perbaikan.

Akhir kata penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi masyarakat, civitas academia FK UNISSULA dan menjadi salah satu sumbangan dunia ilmiah dan kedokteran.

Wassalamu'alikum wr. Wb



Semarang, Juni 2023
Penulis

Ach. Izzat Hakim

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Kadar Hemoglobin.....	6
2.1.1. Definisi.....	6
2.1.2. Metabolisme Hemoglobin.....	6
2.1.3. Efek Hemoglobin.....	7
2.2. Asap Rokok.....	7
2.2.1. Definisi.....	7
2.2.2. Efek Asap Rokok terhadap Darah.....	8
2.3. Vitamin D.....	11
2.3.1. Definisi.....	11

2.3.2. Metabolisme Vitamin D.....	11
2.3.3. Efek Vitamin D	11
2.4. Hubungan Paparan Asap Rokok dan Hemoglobin pada Tikus yang diberi Vitamin D	12
2.5. Kerangka Teori	15
2.6. Kerangka Konsep.....	16
2.7. Hipotesis	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	18
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	22
3.2.1. Variabel Penelitian	22
3.2.2. Definisi Operasional.....	22
3.3. Populasi dan Sampel.....	22
3.3.1. Populasi Penelitian	22
3.3.2. Sampel Penelitian.....	22
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian	23
3.4.1. Instrumen Penelitian.....	23
3.4.2. Bahan Penelitian.....	23
3.5. Cara Penelitian	23
3.5.1. Persiapan Penelitian	23
3.5.2. Pembuatan Suplemen Vitamin D.....	23
3.5.3. Pelaksanaan Penelitian	24
3.5.4. Pengambilan Sampel Darah	25
3.5.5. Melakukan Pemeriksaan Kadar Hemoglobin.....	25
3.6. Tempat dan Waktu	25
3.6.1. Tempat Penelitian.....	25
3.6.2. Waktu Penelitian	23
3.7. Alur Kerja Penelitian	24
3.8. Analisis Hasil	25
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Hasil Penelitian	26

4.1.1. Deskriptif Data	26
4.1.2. Distribusi Data	27
4.1.3. Analisis Multivariat.....	28
4.2. Pembahasan.....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1. Kesimpulan	35
5.2. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	40



DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

1,25(OH)2D	= <i>1,25-dihidroksivitamin D3</i>
2,3 –DPG	= <i>2,3-difosfogliserat</i>
25(OH)D	= <i>25-hidroksivitamin D3</i>
CAT	= <i>Catalase</i>
CaBP	= <i>calcium binding protein</i>
CO ₂	= <i>Karbondioksida</i>
CYP27BI	= <i>1α-hydroxylase</i>
DBP	= <i>D-Binding Protein</i>
ECaC	= <i>Epithelial Calcium Channel</i>
FGF-23	= <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GPx	= <i>Glutathione Peroksidase</i>
GSH	= <i>Glutathione</i>
GST	= <i>Glutathione Transferase</i>
H ⁺	= <i>Hidrogen</i>
H ₂ CO ₃	= <i>Carbonic acid</i>
Hb	= <i>Hemoglobin</i>
HbCO ₂	= <i>Karbominoglobin</i>
HbCO	= <i>Carboxyhemoglobin</i>
HbO ₂	= <i>Oksihemoglobin</i>
ICSH	= <i>International Committee for Standardization in Hematology</i>
LDH	= <i>Laktat dehidrogenase</i>
LPO	= <i>Lipid Peroksidase</i>
OH-	= <i>Hidroksil</i>
PO ₂	= <i>Pressure of Oxygen</i>
PRDX-2	= <i>Peroxsiredoksin-2</i>
RNS	= <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	= <i>Superoxide dismutase</i>
TAC	= <i>Total Antioxidant Capacity</i>

WHO = *World Health Organization*



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Kerangka Teori	15
Gambar 2.2.	Kerangka Konsep	16
Gambar 3.1.	Rancangan Penelitian	18
Gambar 3.2.	Alur Penelitian.....	24
Gambar 4.1.	Grafik rerata Kadar Hemoglobin.....	27



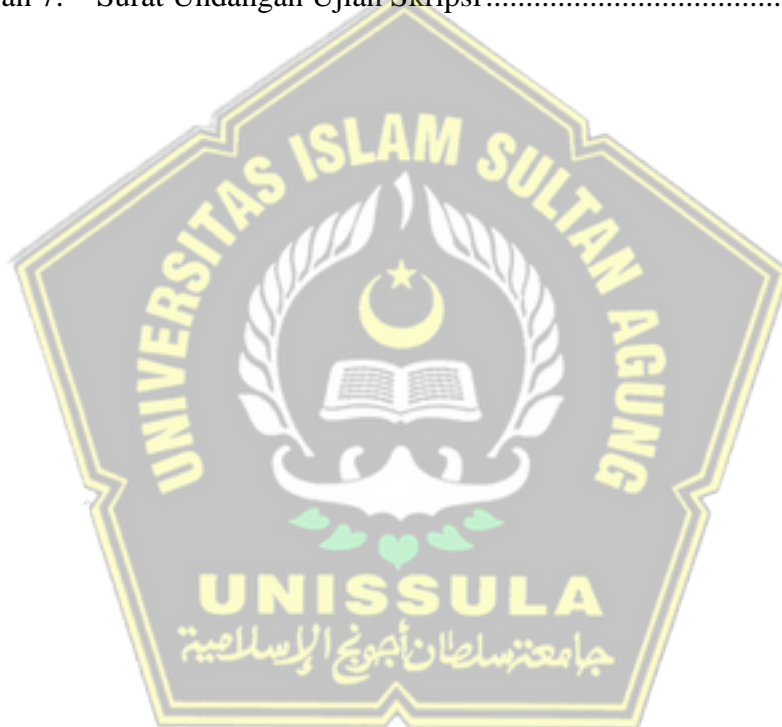
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Hasil Rerata Kadar Hemoglobin.....	26
Tabel 4.2.	Hasil Uji Normalitas Kadar Hemoglobin	28
Tabel 4.3.	Hasil Uji Homogenitas Kadar Hemoglobin.....	28
Tabel 4.4.	Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	28



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Sampe Penelitian	40
Lampiran 2.	Hasil SPSS.....	42
Lampiran 3.	<i>Ethical Clearance</i>	45
Lampiran 4.	Surat Izin Penelitian	46
Lampiran 5.	Surat Selesai Penelitian	47
Lampiran 6.	Foto Penelitian.....	48
Lampiran 7.	Surat Undangan Ujian Skripsi.....	49



INTISARI

Paparan asap rokok dengan frekuensi yang berbeda diduga dapat memicu berbagai masalah gangguan peredaran darah dan meningkatnya radikal bebas yang berkaitan dengan meningkatnya kadar hemoglobin. Vitamin D sebagai antioksidan diduga dapat menurunkan radikal bebas dan meningkatkan kadar hemoglobin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi Vitamin D.

Jenis penelitian adalah eksperimental dengan desain *posttest only control group*. Data diambil dari 25 sampel darah tikus dari 5 kelompok, kemudian darah di sentrifugasi dan diukur kadar hemoglobin di Laboratorium IBL Tentara Semarang.

Hasil rerata kadar hemoglobin tertinggi pada tikus *Rattus Norvegicus* yang terpapar asap rokok dengan paparan 2x4 dan diberi vitamin D sebesar 14.80 ± 5.30 mg/dL dan terendah pada rerata kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang terpapar asap rokok dengan paparan 1x8 sebesar 13.34 ± 7.25 mg/dL. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Shapiro Wilk* sebagai uji normalitas dan *Lavene,s Test* sebagai uji homogenitas dengan hasil data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya data dianalisis dengan uji dengan *One Way Anova*, menunjukkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p > 0.05$).

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberikan paparan asap rokok.

KATA KUNCI : Frekuensi Paparan Asap Rokok, Kadar Hemoglobin, Vitamin D

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perokok merupakan orang telah menghabiskan 100 batang rokok atau lebih sejak awal merokok sampai terakhir kali merokok, baik dilakukan setiap hari atau berjangka (tidak dilakukan setiap hari) (Byeon, 2015). Asap rokok memiliki efek terhadap tubuh yaitu dengan meningkatkan radikal bebas, peningkatan radikal bebas akan memicu reaksi inflamasi yang akan menyebabkan *Reactive Oxygen Species* yang tinggi dalam tubuh sehingga kadar Hb (Hemoglobin) akan menjadi rendah dan kadar HbCO₂ (Karbominoglobin) akan ditingkatkan (Harlev *et al.*, 2015). Vitamin D adalah salah satu antioksidan yang dapat menekan jumlah radikal bebas. Vitamin D diketahui bertanggung jawab dalam peningkatan plasma Ca, vasodilatasi dan sekresi hormone (Hendratta dan Lefrandt, 2013). Vitamin D akan meningkatkan biomarker oksidatif stress seperti, *glutathione* (GSH) dan *Total Antioxidant Capacity* yang akan menurunkan jumlah radikal bebas berlebih didalam tubuh (Mokhtari *et al.*, 2017).

World Health Organization (WHO) melaporkan Indonesia tercatat sebagai negara dengan urutan ke 3 di dunia sebagai negara dengan jumlah perokok terbanyak setelah China dan India. Dua puluh delapan persen penduduk Indonesia merupakan perokok dan kemungkinan akan terus meningkat hingga 45% ditahun 2025 mendatang(WHO, 2015). Penderita anemia di Indonesia pada tahun 2013 menunjukkan angka 23,9% pada

perempuan yang lebih tinggi daripada lelaki yang sebesar 18,4% (Triyono *et al.*, 2019). Pada ibu hamil risiko kejadian anemia meningkat 4,09 kali lebih berisiko dari yang tidak terpapar asap rokok dan risiko kejadian anemia pada ibu hamil berdasarkan lama paparan ≤ 15 menit/hari sebesar 6,33 kali (Safitri dan Syahrul, 2015). Penurunan kadar Hb akan menyebabkan peningkatan dari *carboxyhemoglobin* (HbCO) karena *carboxyhemoglobin* (HbCO) memiliki kemampuan 200 kali lebih stabil daripada HBO₂ (Hall dan Guyton, 2011). *Carboxyhemoglobin* (HbCO) yang berlebih akan menyebabkan penurunan transport oksigen sehingga terjadi penurunan oksigen di tingkat seluler (Bakhtiar dan Tantri, 2019). Asap rokok dapat memicu aktivasi *Lipid Peroksidase* (LPO) yang menurunkan antioksidan eritrosit sehingga membrane eritrosit rusak dan mudah lisis dan berakhir pada penurunan eritrosit (Sailaja *et al.*, 2003).

Radikal bebas dapat terbentuk dari berbagai macam reaksi kimia di tubuh dan di lingkungan seperti asap rokok, asap kendaraan, radikal bebas dalam jumlah normal akan berdampak positif bagi tubuh karena mampu untuk melawan bakteri (I, 2009). Radikal bebas yang berlebih didalam tubuh akan meningkatkan reaksi inflamasi yang akan membentuk *Reactive Oxigent Species* (ROS) (Šebeková *et al.*, 2015). *Reactive Oxigent Species* (ROS) akan menyebabkan stres oksidatif pada eritrosit, stres oksidatif akan menyebabkan ketidakstabilan dan mudah pecah pada lipid peroksida sehingga eritrosit akan mudah lisis (Triyono *et al.*, 2019). Senyawa radikal bebas dengan jumlah yang banyak didalam tubuh dapat ditekan jumlah dan

efek negatif nya oleh antioksidan, salah satu bentuk dari antioksidan adalah vitamin D (Mokhtari *et al.*, 2017). Antioksidan banyak terkandung didalam vitamin D, selain itu vitamin D cukup mudah didapatkan melalu konsumsi suplemen vitamin D, atau dari berjemur di pagi hari pada waktu yang di anjuran, akan tetapi harga suplemen vitamin D yang mahal menjadi salah satu kendala masyarakat untuk mengkonsumsi suplemen tersebut, dan juga kebiasaan masyarakat yang tidak mau berjemur menjadi salah satu penyebab kurangnya pembentukan vitamin D didalam tubuh (Pusparini, 2018).

Peneliti ingin melakukan penelitian terkait pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus yang di beri vitamin D, untuk mengetahui pentingnya mendapat vitamin D yang cukup serta dengan menyusun sebuah penelitian yang berfokus pada perbedaan parameter kadar Hb pada tikus yang diberi variasi frekuensi paparan asap rokok.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi vitamin D ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengukur pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi vitamin D.

1.3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi vitamin D pada kelompok yang terpapar satu kali, dua kali, dengan kelompok kontrol.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian diharapkan dapat mengetahui mengenai frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang terpapar asap rokok.

1.4.2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian vitamin D terhadap kadar hemoglobin pada tikus yang terpapar asap rokok sehingga dapat dijadikan bahan pertimbangan sebagai pengobatan atau tindakan preventif pada kejadian penyakit yang memiliki keterkaitan dengan kadar hemoglobin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kadar Hemoglobin

2.1.1. Definisi

Hemoglobin merupakan protein yang terdapat didalam eritrosit yang memiliki fungsi untuk mendistribusikan oksigen ke jaringan (Hall dan Guyton, 2011). Hemoglobin tersusun atas polipeptida globin yang disintesis dari gen α dan β . (Rodwell, 2015).

2.1.2. Metabolisme Hemoglobin

Kadar Hemoglobin ditentukan dengan menggunakan Hematology Analyzer sebagai alat yang memiliki akurasi yang tinggi dalam pengukuran kadar hemoglobin (Amelia *et al.*, 2016). Hemoglobin memiliki fungsi utama untuk mensuplai oksigen ke jaringan. Sel darah merah melalui sistem kapiler paru, oksigen akan mengikat besi dalam heme. Heme (ferro) yang berikatan dengan oksigen disebut *oxyhemoglobin* (HbO_2), afinitas hemoglobin terhadap oksigen menyebabkan oksigen berikatan secara reversibel dengan hemoglobin. Jumlah oksigen yang di salurkan ke jaringan bergantung pada kekuatan afinitas, jika afinitas pada oksigen terlalu tinggi, molekul hemoglobin akan mengalami gangguan saat merilis oksigen ke jaringan. Jika afinitas pada oksigen rendah, maka akan terjadi gangguan pengikatan oksigen (Welbourn *et al.*, 2017).

Hemoglobin mampu untuk mengubah afinitas pada *oxygen* berdasarkan partial *Pressure of Oxygen* (PO_2) dalam darah, ketika darah melalui paru-paru, maka hemoglobin akan mengikat oksigen, dan PO_2 meningkat dari 40mmHg di jaringan menjadi 110mmHg (Pusparini, 2018). PO_2 akan berkurang dari arterial level ke venous level, hemoglobin di jaringan rendah (Ernawati dan Budiman, 2015). Saturasi berkurang karena jumlah oksigen yang dilepaskan ke jaringan relative besar, maka aktivitas metabolik jaringan meningkat, PO_2 menurun, sehingga oksigen akan di teruskan ke jaringan, dengan aktivitas berat, PO_2 jaringan dapat turun serendah 15mmHg (Harlev *et al.*, 2015). Pada PO_2 ini, pengiriman oksigen ke jaringan meningkat tiga kali lipat jumlahnya dikirim ke jaringan saat istirahat, ini adalah sebuah respon adaptif penting untuk memastikan bahwa jaringan oksigenasi cukup untuk memenuhi metabolisme tuntutan. Akhirnya, pada PO_2 yang paling rendah, kurva kembali datar. Perubahan lain terjadi pada metabolisme aktif jaringan yang lebih meningkatkan pengiriman oksigen (Mokhtari *et al.*, 2017). Di jaringan, di tempat metabolisme aktif (seperti otot yang sedang berolahraga), konsentrasi ion hidrogen, tekanan parsial karbon dioksida (PCO_2), dan suhu semuanya meningkat, afinitas hemoglobin-oksigen menurun, hal ini akan memfasilitasi pelepasan oksigen, meningkatkan PO_2 di area tersebut dan meningkatkan

ketersediaan oksigen untuk penyerapan oleh jaringan (Welbourn *et al.*, 2017).

2.1.3. Efek Hemoglobin

Hemoglobin bergerak melalui kapiler jaringan, penurunan konsentrasi oksigen di jaringan menyebabkan terjadinya pelepasan oksigen (Susanti dan Wirjatmadi, 2017). Sepanjang siklus, akan terjadi pengikatan CO₂, kemudian CO₂ bergabung dengan gugus amino pada bagian globin dari hemoglobin menjadi karbaminohemoglobin (Hanifiati, 2019). Karbaminohemoglobin dibawa kembali ke paru-paru, tempat CO₂ dikeluarkan dan sisanya diangkut sebagai bikarbonat (67 persen) atau dilarutkan dalam plasma (9 persen). Akhirnya, hemoglobin berperan dalam pengaturan keseimbangan asam-basa dengan bertindak sebagai buffer pH intraseluler. Hemoglobin mengikat ion hidrogen (H⁺) dibebaskan dari *carbonic acid* (H₂CO₃). Pengikatan ion hidrogen juga memfasilitasi pelepasan oksigen ke jaringan (Welbourn *et al.*, 2017).

2.2. Asap Rokok

2.2.1. Definisi

Asap rokok mengandung banyak senyawa kimia didalamnya, sekitar 4000 senyawa dan beberapa dari senyawa tersebut adalah nikotin, tar, 3,4-benzopiren, karbonmonoksida, karbondioksida,

nitrogen oxide, amonia dan sulfur. Setiap rokok yang dihisap mengandung sejumlah oksidan yang tinggi salah satunya *aldehida*, *epoxide*, *peroxide*, dan radikal bebas lainnya (Pratama dan Busman, 2020). Karbon monoksida merupakan zat yang tidak memiliki warna, bau dan tidak memiliki rasa. Zat ini mempunyai afinitas yang lebih tinggi dari *oxygen* terhadap hemoglobin dengan jumlah 210 – 300 kali lebih besar (Harley *et al.*, 2015). Asap rokok ketika terhirup ke dalam tubuh akan menstimulasi pembentukan radikal bebas (Legowo, 2016).

2.2.2. Efek Asap Rokok terhadap Darah

Asap rokok mengandung banyak molekul karsinogenik, mutagenic dan radikal bebas yang dapat dengan mudah bereaksi terhadap biomolekul, menyebabkan *DNA injury*, *Lipid peroksidase* didalam jaringan (Welbourn *et al.*, 2017). Seseorang yang terus menerus dan lebih sering terpapar asap rokok akan lebih berpotensi terbentuk radikal bebas dan stress oksidatif didalam tubuh (Asif *et al.*, 2013).

Sel darah merah mengakumulasi beberapa metabolisme, biokimia, dan morfologis lesi selama penyimpanan. Sel darah merah akan sering terpapar dengan sumber endogen dan eksogen spesies oksigen reaktif (ROS) yang dapat merusak dan mengganggu fungsinya (Welbourn *et al.*, 2017). Untuk meminimalisasi efek ROS dan stres oksidatif, sel darah merah akan mempertahankan sistem

antioksidan yang melibatkan *non-enzymatic low molecular weight antioxidants* seperti *glutathione* (GSH). Sel darah merah juga memiliki antioksidan enzimatik pertahanan, seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroksidase* (GPx), *glutathione transferase* (GST), dan *peroksiredoksin-2* (PRDX-2). Lesi penyimpanan sel darah merah termasuk ATP dan penipisan 2,3-difosfoglisarat (2,3-DPG), kelelahan pertahanan antioksidan endogen, selanjutnya oksidasi hemoglobin, dan kebocoran laktat, *laktat dehidrogenase* (LDH), hemoglobin, dan kalium atau ion kalsium ke dalam media suspensi (Legowo, 2016). Radikal bebas yang berlebih akan menyebabkan penurunan eritrosit, yang diakibatkan juga oleh ROS, karena ROS bersifat reaktif sehingga dapat menyebabkan stress oksidatif pada eritrosit. Stress oksidatif akan menghilangkan fluiditas dan fragilitas peroksida lipid pada membran eritrosit sehingga eritrosit akan mudah lisis, lisisnya membran eritrosit menyebabkan hemoglobin terbebas ke dalam plasma, sehingga jumlah hemoglobin semakin berkurang (Pratama dan Busman, 2020). Hal ini mengakibatkan kadar hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit rendah (Ahumibe dan Braide, 2009).

2.3. Vitamin D

2.3.1. Definisi

Vitamin D adalah dengan bentuk utamanya vitamin D3 atau kolekalsiferol, yang terbentuk di kulit setelah paparan sinar matahari atau sinar ultraviolet, dan ergocalciferol atau vitamin D2 yang diperoleh dari tanaman atau bahan tanaman atau makanan (Hall dan Guyton, 2011). Vitamin D3 disintesis di kulit dengan penyinaran ultraviolet dari 7-dehidrokolesterol, selain itu dapat juga diperoleh dari sumber nutrisi, terutama ikan berlemak (Legowo, 2016). Pembentukannya dipengaruhi usia, kulit yang berpigmen, penggunaan tabir surya dan pakaian. Vitamin D3 atau *cholecalciferol* kemudian dihidroksilasi di hati menjadi *25-hidroksivitamin D3 (25(OH)D)* dan selanjutnya di ginjal menjadi *1,25-dihidroksivitamin D3 (1,25(OH)2D)* (Rodwell, 2015).

2.3.2. Metabolisme Vitamin D

Vitamin D masuk ke dalam darah dalam keadaan belum aktif, yang kemudian diaktifasi dengan cara ditamban dua gugus hidroksil (-OH) (Louisa dan Paramita, 2017). Proses aktivasi vitamin D terjadi di hati dan ginjal dengan hasil akhir berupa $1,25-(OH)_2 - D_3$ (Hall dan Guyton, 2011). Vitamin D diikat oleh *vitamin D-Binding Protein (DBP)* yang selanjutnya oleh mikrosom hati ditransportasikan ke hati sehingga akan diubah menjadi kalsidiol melalui hidroksilasi dengan bantuan enzim 25-D3- hidroksilase.

(Puspitasari *et al.*, 2020). Selanjutnya kalsidiol mengalami hidroksilasi yang kedua kalinya yaitu setelah didistribusikan ke ginjal dengan bantuan enzim *1 α -hydroxylase* (CYP27BI) membentuk vitamin D yang merupakan metabolit aktif berupa 1,25-(OH)₂-D₃ atau *calcitriol* (Mokhtari *et al.*, 2017). Senyawa ini akan terikat pada vitamin D reseptor pada jaringan tertentu yang berperan dalam meningkatkan absorpsi kalsium dalam usus dan reabsorpsi kalsium dalam ginjal pada saat kadar kalsium darah rendah (Šebeková *et al.*, 2015). Serum fosfat, kalsium, *fibroblast growth factor* (FGF-23), dan faktor lain dapat meningkatkan atau menurunkan produksi kalsitriol. Kalsitriol juga dapat meningkatkan ekspresi 24-OHase, enzim yang berperan pada katabolisme kalsitriol menjadi asam kalsitroik yang larut air untuk kemudian diekskresi ke dalam empedu (Ernawati dan Budiman, 2015).

2.3.3. Efek Vitamin D

Kalsitriol terdapat di berbagai organ seperti usus halus, ginjal, dan jaringan lain dan di organ tersebut akan berikatan dengan reseptornya. Di usus halus, melalui stimulasi ekspresi *epithelial calcium channel* (ECaC) dan calbindin 9K *calcium binding protein* (CaBP) kalsitriol akan menstimulasi penyerapan kalsium (Mokhtari *et al.*, 2017). Selain itu reseptor vitamin D dapat ditemukan di dalam endothelium, sebagai pelindung terhadap aterosklerosis juga ditemukan reseptor vitamin D di otot polos dan sel jantung, melalui

hambatan ambilan kolesterol oleh makrofag (pembentukan sel busa), menurunkan proliferasi sel otot polos vaskular, menurunkan ekspresi molekul adhesi pada sel endotel dan hambatan pelepasan sitokin dari limfosit (Welbourn *et al.*, 2017). Vitamin D juga dapat meningkatkan jumlah trombosit dengan menghambat sitokin pro-inflamasi, pro-inflamasi kemudian akan meningkatkan regulasi dari hormon trombopoietin yang akan membuat produksi sel progenitor trombosit (megakariosit) didalam darah akan mengalami peningkatan dan akan terjadi proses pengeluaran trombosit (Puspitasari *et al.*, 2020).

2.4. Hubungan Paparan Asap Rokok dan Hemoglobin pada Tikus yang diberi Vitamin D

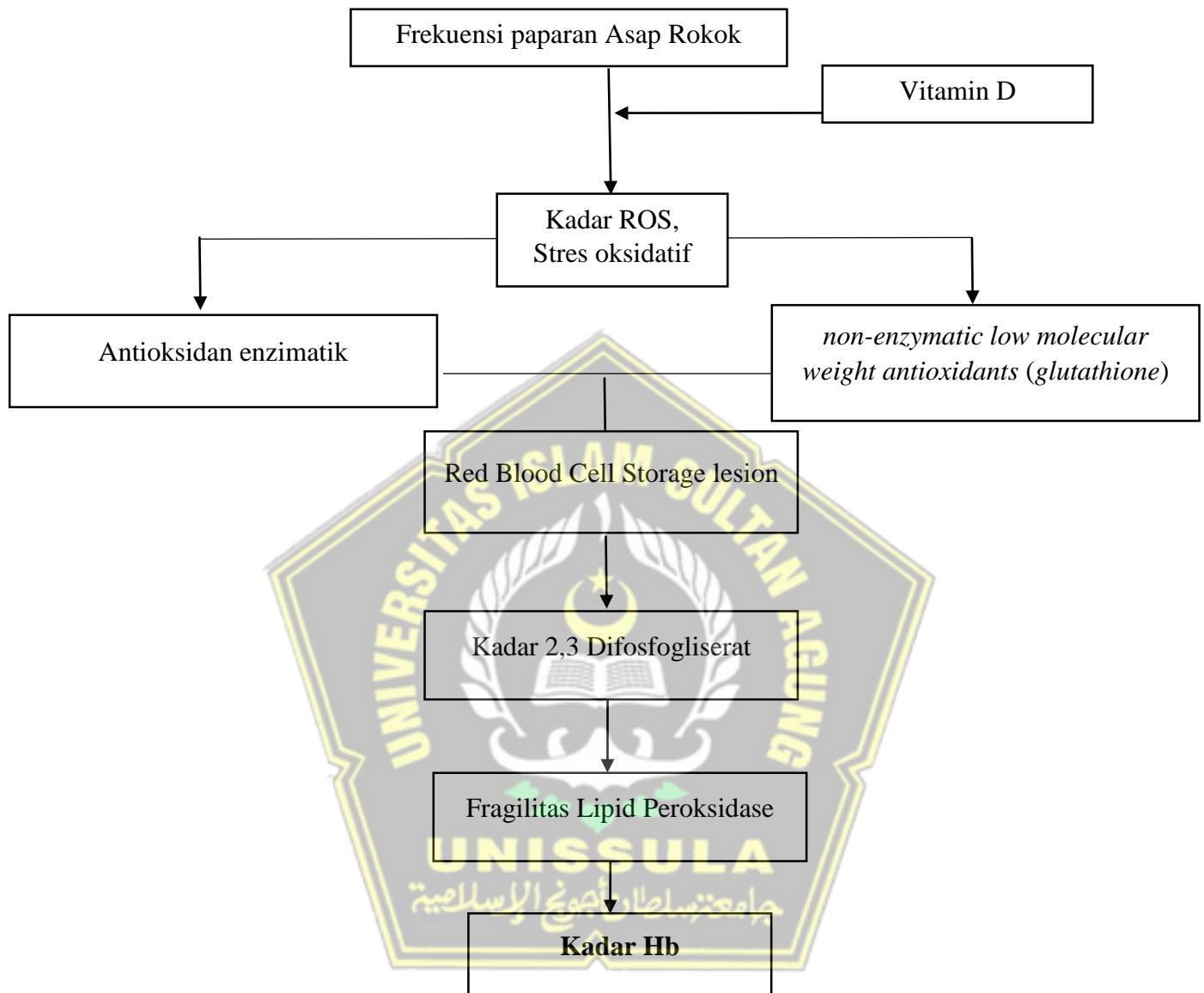
Metabolit vitamin D dalam sirkulasi terikat pada protein pengikat vitamin D yang memiliki afinitas tinggi terhadap 25(OH)D, 24,25(OH)₂D dan 1,25(OH)₂D dan memiliki homologi yang tinggi terhadap albumin. Metabolit aktif 1,25(OH)₂D memasuki sel dan berikatan dengan reseptor vitamin D. Kompleks ini membentuk heterodimer dengan retinoid reseptor dan mengikat elemen responsif vitamin D pada gen responsif, seperti osteocalcin, protein pengikat kalsium atau 24-hidroksilase (Puspitasari *et al.*, 2020). Vitamin D mampu meningkatkan biomarker stres oksidatif seperti GSH, SOD dan *Total Antioxidant Capacity* yang bekerja untuk melawan dan menekan radikal bebas berlebih didalam tubuh (Mokhtari *et al.*, 2017).

Menurut penelitian (Handayani *et al.*, 2018), kadar hemoglobin pada tikus yang terpapar asap rokok mengalami penurunan dan mengalami peningkatan HbCO. Penurunan kadar hemoglobin ini dihubungkan dengan kenaikan jumlah ROS dan stress oksidatif didalam tubuh. Efek radikal bebas yang dihasilkan dari asap rokok akan mengakibatkan hemolisis terhadap eritrosit . Sel darah merah dalam batas dan jumlah tertentu mampu meminimalisasi efek ROS dan stres oksidatif dengan mempertahankan sistem antioksidan yang melibatkan *non-enzymatic low molecular weight antioxidants* seperti *glutathione* (GSH) selain itu sel darah merah juga memiliki antioksidan enzimatik pertahanan(Legowo, 2016). ROS dan stres oksidatif yang jumlahnya tidak dapat ditoleransi oleh sel darah merah akan menyebabkan *red blood cell storage lesion* yang dapat berakibat pada penipisan 2,3-DPG, melemahnya pertahanan antioksidan endogen dan selanjutnya terjadi oksidasi hemoglobin, menghilangkan stabilisasi dan menyebabkan lipid peroksidase mudah pecah sehingga eritrosit menjadi lisis dan hemoglobin tersebar ke plasma dan terjadi penurunan kadar hemoglobin. Pb yang terdapat didalam tembakau memiliki sifat toksik terhadap darah sehingga akan mengganggu metabolisme heme karena adanya pemblokiran terhadap fungsi enzim yang dapat menyebabkan kadar hemoglobin menurun. ROS dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) yang ditimbulkan asap rokok dengan mudah bereaksi terhadap biomolekul, kemudian menyebabkan *DNA injury*, aktivasi *Lipid Peroksidase* (LPO) sehingga akan menurunkan antioksidan eritrosit(Welbourn *et al.*, 2017).

Apabila terpapar karbonmonoksida maka didalam darah ikatan HbCO akan lebih dominan dibandingkan HbO, dan berdampak pada fungsi kerja hemoglobin yaitu sebagai distributor oksigen ke seluruh tubuh sehingga oksigen yang dihantarkan ke organ-organ vital dan juga sel diseluruh tubuh berkurang (Susanti dan Wirjatmadi, 2017).



2.5. Kerangka Teori

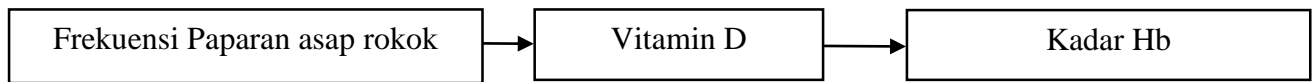


Keterangan :



Gambar 2.1. Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.2. Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

Terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi vitamin D.

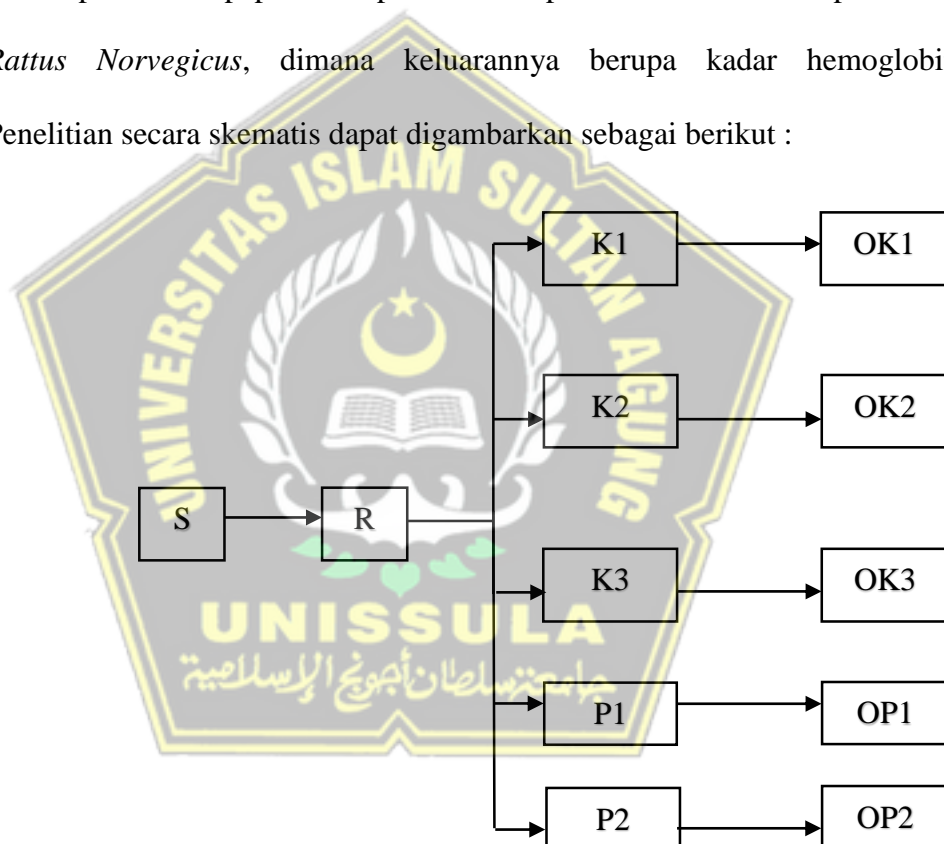


BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian paparan asap rokok dan pemberian vitamin D pada tikus *Rattus Norvegicus*, dimana keluarannya berupa kadar hemoglobin. Penelitian secara skematis dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 3.1. Rancangan Penelitian

Keterangan :

S = Sampel berupa tikus putih *Rattus Norvegicus*

R = Randomisasi

K1 = Kelompok kontrol dengan frekuensi paparan asap rokok 2 kali dengan 4 batang rokok/2hari

- K2 = Kelompok kontrol dengan frekuensi paparan asap rokok 1 kali dengan 8 batang rokok/2hari
- K3 = Kelompok kontrol tanpa diberikan paparan asap rokok dan diberi Vitamin D 0,2 μ gr/dL
- P2 = Kelompok perlakuan dengan frekuensi paparan asap rokok 1 kali dengan 8 batang rokok/2hari + Vitamin D 0,2 μ gr/dL
- P3 = Kelompok perlakuan dengan frekuensi paparan asap 2 kali dengan 4 batang rokok/2hari + vitamin D 0,2 μ gr/dL
- OK1 = Observasi kadar Hemoglobin kelompok K1
- OK2 = Observasi kadar Hemoglobin kelompok K2
- OK3 = Observasi kadar Hemoglobin kelompok K3
- OP1 = Observasi kadar Hemoglobin kelompok P1
- OP2 = Observasi kadar Hemoglobin kelompok P2

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

- 3.2.1.1. Variabel Bebas : Frekuensi paparan asap rokok
- 3.2.1.2. Variabel Terikat : Kadar Hemoglobin

3.2.2. Definisi Operasional

- 3.2.2.1. Frekuensi Paparan Asap Rokok

Frekuensi paparan asap rokok diperoleh dari banyaknya pemberian asap rokok pada tikus melalui lubang yang sudah di buat pada kandang . Paparan asap rokok dilakukan dua hari sekali tiap pagi hari dengan frekuensi paparan yang berbeda yaitu 8x1/ dua hari, 4x2/ duahari) pada hari ke-7 hingga hari ke-14.

Skala: rasio.

3.2.2.2. Kadar Hemoglobin

Kadar Hb dapat dihitung dengan alat *hematology analyzer*, dimana jumlah Hb dalam serum darah tikus yang diambil pada hari ke-22 dari tikus *Rattus Norvegicus* dan dinyatakan dalam satuan mg/dl.

Skala: rasio.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi Penelitian

Sampel yang digunakan sebanyak 5 tikus *Rattus Novergicus* tiap kelompok, sehingga berdasarkan jumlah keseluruhan sampel yaitu 25 ekor tikus *Rattus Novergicus*.

3.3.2. Sampel Penelitian

3.3.2.1. Kriteria inklusi

- Tikus *Rattus Norvegicus* Jantan
- Berat badan tikus 180 gr
- Usia tikus 4 bulan
- Sudah diadaptasi tujuh hari

3.3.2.2. Kriteria eksklusi

- Tikus sakit

3.3.2.3. Kriteria *drop out*

- Tikus mati saat adaptasi maupun penelitian

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

Kandang tiap kelompok, sonde lambung, timbangan, mesin sentrifugasi, tabung sentrifuse mini, tabung reaksi rak tabung *Disposable Syringes*, *autohematology analyzer*, mikropipet, kuvet, waterbath.

3.4.2. Bahan Penelitian

3.4.2.1. *autohematology analyzer*

3.4.2.2. Tikus Jantan dan betina

3.4.2.3. Ransum pakan standar

3.4.2.4. Akuades

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Persiapan Penelitian

Persiapan dimulai dengan subjek penelitian yaitu 25 ekor tikus *Rattus Novergicus* usia 4 bulan, tikus memiliki berat badan 180 gram. Subjek dikelompokkan berisi 5 tikus per kelompok secara random dan diaklimatisasi selama 7 hari yang dimulai dari hari pertama hingga hari ke tujuh dengan diberi pakan standar.

3.5.2. Pembuatan Suplemen Vitamin D

Pemberian Vitamin D dilakukan setiap jam 16.00 WIB, setiap hari pada minggu ke-2 bersamaan dengan pemberian paparan asap

rokok. Dosis Vitamin D diberikan sebanyak 0,2 μ gr/ekor menggunakan spluit 1 cc, karena Vitamin D merupakan vitamin larut lemak maka harus diencerkan dengan minyak zaitun. Pemberian Vitamin D diberikan secara oral menggunakan sonde oral. Sonde oral ditempelkan pada langit-langit mulut tikus kemudian perlahan dimasukkan sampai ke esofagus dan cairan Vitamin D dimasukkan. Dosis Vitamin D yang lazim pada manusia adalah 500-600 mg, dosis ini perlu dikonversi untuk diberikan ke hewan uji. Namun pada penelitian ini, pemberian dosis vitamin D merujuk pada penelitian sebelumnya yaitu 0,2 μ gr/ekor namun jika berdasarkan konversi 0,05mg.

3.5.3. Pelaksanaan Penelitian

Tikus yang dipapar asap rokok akan diberikan kandang untuk penelitian yang terbuat dari besi dimana nantinya dibedakan menjadi kandang dengan pengasapan dan kandang tanpa pengasapan. Pada bagian tengah kandang diletakkan kotak kaleng yang diberi lubang dua cm agar asap rokok yang ada didalam kotak keluar melalui lubang tersebut. Alas kandang berupa serutan kayu. Pengasapan dilakukan dari hari ke tujuh hingga hari ke-14 dengan cara memberikan rokok setiap dua hari sekali yaitu hari senin, rabu, jumat, dan minggu. Pengikatan batang rokok dilakukan pada jam 10.00 dan 14.00 dengan jumlah batang rokok yaitu tidak pengasapan rokok, delapan batang rokok per hari, empat batang dua kali per hari

dengan durasi masing-masing 30 menit. Batang rokok dimasukkan kedalam kandang tikus yang sudah memiliki lubang sebagai tempat rokok. Sedangkan pada kandang tanpa pengasapan akan diletakkan pada lokasi yang berbeda. Rokok yang digunakan adalah jenis kretek.

3.5.4. Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah diambil dengan cara mempersiapkan tabung penampung darah dan *microhematocrit*, setelah itu *microhematocrit* ditusukkan pada sinus orbitalis secara memutar mikrohematokrit tersebut sampai darah keluar pada vena tikus. Masukkan sampel darah ke venoject plain ukuran 5 mL.

3.5.5. Melakukan Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Pengukuran kadar Hb diukur dengan pemeriksaan laboratorium menggunakan *autohematology analyzer*. *Autohematology analyzer* digunakan untuk memeriksa darah lengkap melalui proses penghitungan dan pengukuran sel eritrosit secara otomatis dari berkas cahaya yang melewati sel-sel.

3.6. Tempat dan Waktu

3.6.1. Tempat Penelitian

3.6.1.1. Pemberian paparan asap rokok dan vitamin D pada tikus dilaksanakan di Integrated Biomedical Laboratory (IBL)

3.6.1.2. Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

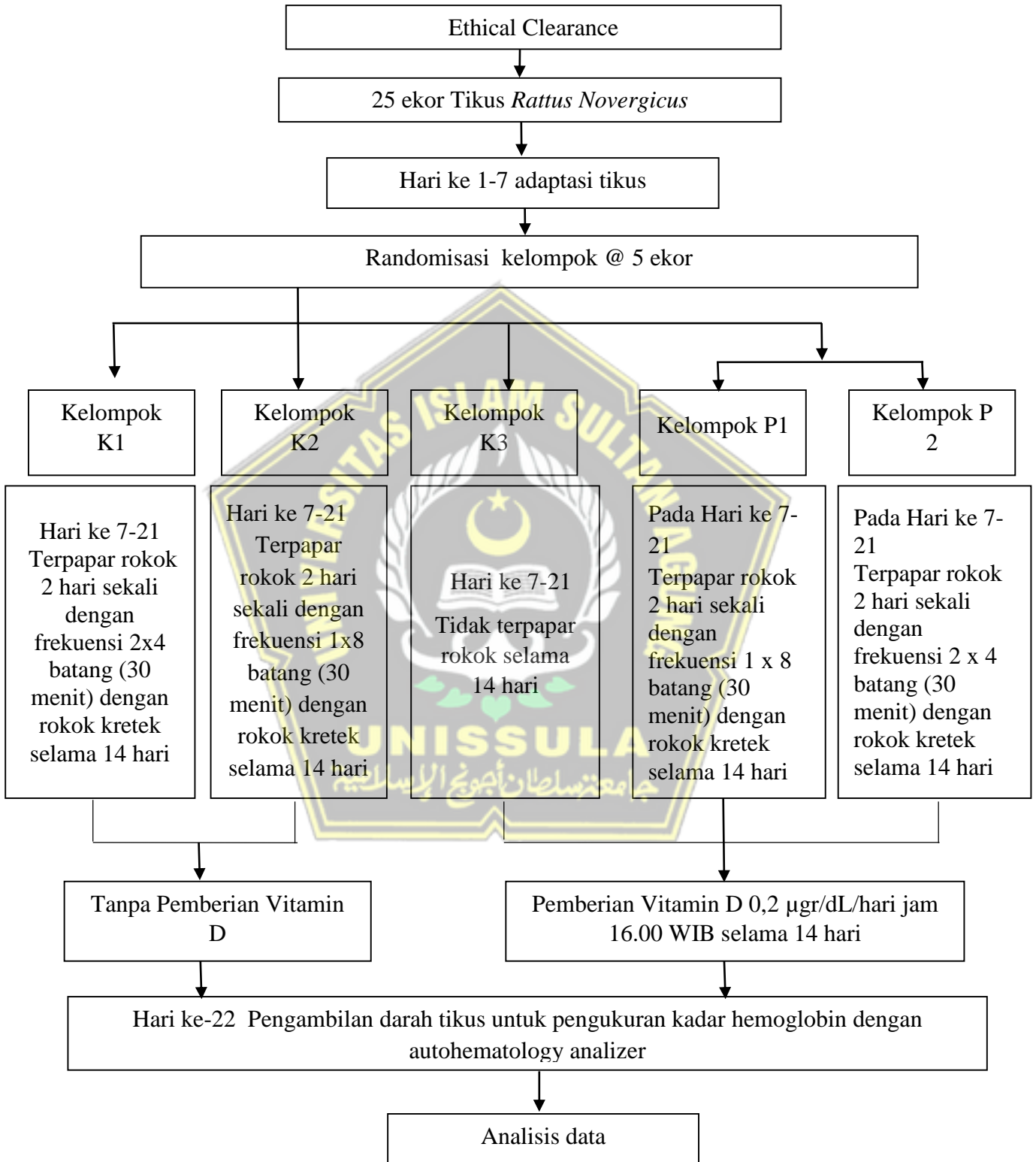
3.6.1.3. Pengukuran kadar hemoglobin dilaksanakan di Laboratorium Klinik IBL *Medical Check Up*.

3.6.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan selama 29 Desember 2022 – 21 Januari 2023.



3.7. Alur Kerja Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

3.8. Analisis Hasil

Berdasarkan hasil yang diperoleh merupakan kadar hemoglobin berupa satuan dalam bentuk mg/dl, setelah itu dilakukan analisis statistik. Data hasil pengukuran dianalisis statistik menggunakan SPSS *software for Windows*. Jumlah sampel <30 , sehingga *Shapiro Wilk* digunakan untuk uji normalitas pada data kadar hemoglobin dan *Levene's Test* sebagai uji homogenitas. Data dinyatakan terdistribusi normal dan data dinyatakan homogen maka selanjutnya dilakukan uji parametrik menggunakan uji *One Way Anova*, namun hasil tidak ada perbedaan-



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh frekuensi asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus yang diberi vitamin D. Percobaan dilakukan pada tikus *Rattus Norvegicus* dengan sampel sejumlah 25 ekor yang terbagi pada 5 kelompok dan dilakukan selama 21 hari. Vitamin D yang digunakan merupakan produk *D-VIT* yang diproduksi oleh PT. GRACIA PHARMINDO yang dikemas dalam botol sirup.

Kelompok 1 (K1) dan Kelompok 2 (K2) sebagai kontrol negatif dengan paparan asap rokok dengan frekuensi masing-masing 2x4 dan 1x8 tanpa diberi vitamin D, sedangkan kelompok 3 (K3) sebagai kontrol positif dengan tidak dipapar rokok dan diberi vitamin D, kelompok (P1) dan kelompok (P2) sebagai kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok dengan frekuensi masing-masing 1x8 dan 2x4 dengan pemberian vitamin D.

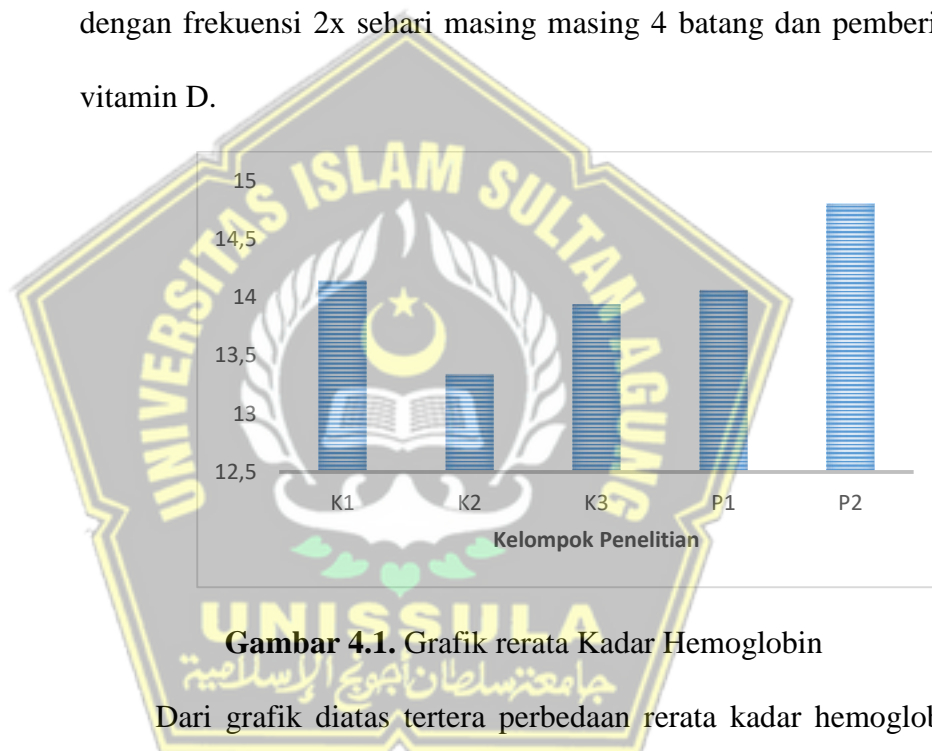
4.1.1. Deskriptif Data

Dilakukan pengelolaan data rerata jumlah kadar hemoglobin dari masing-masing kelompok didapat hasil seperti pada tabel dan grafik dibawah ini :

Tabel 4.1. Hasil Rerata Kadar Hemoglobin

	Rerata \pm SD	Median
K1	14.14 \pm 5.5	14.20
K2	13.34 \pm 7.25	13.40
K3	13.94 \pm 8.31	14.20
P1	14.06 \pm 7.61	14.30
P2	14.80 \pm 5.30	15.00

Keterangan : K1 : paparan asap rokok dengan frekuensi 2x sehari masing masing 4 batang tanpa pemberian vitamin D. K2 : paparan asap rokok dengan frekuensi 1x sehari dengan 8 batang tanpa pemberian vitamin D. K3 : tidak dipapar asap rokok dan diberi vitamin D. P1 : paparan asap rokok dengan frekuensi 1x sehari dengan 8 batang dan pemberian vitamin D. P2 : paparan asap rokok dengan frekuensi 2x sehari masing masing 4 batang dan pemberian vitamin D.



Gambar 4.1. Grafik rerata Kadar Hemoglobin

Dari grafik diatas tertera perbedaan rerata kadar hemoglobin antar kelompok. Kadar hemoglobin tertinggi pada kelompok P2 sedangkan kadar hemoglobin terendah pada K2.

4.1.2. Distribusi Data

Data jumlah Kadar Hemoglobin yang didapatkan diuji normalitasnya dengan *Shapiro-Wilk* dan dilakukan uji homogenitas dengan *Lavene, st test*. Hasilnya bisa terlihat pada table dibawah ini :

Tabel 4.2. Hasil Uji Normalitas Kadar Hemoglobin

		Uji Normalitas
	Kelompok	Nilai <i>P</i>
Kadar Hemoglobin	K1	0,512*
	K2	0,995*
	K3	0,944*
	P1	0,205*
	P2	0,184*

Keterangan : * = $p > 0,05$

Tabel 4.3. Hasil Uji Homogenitas Kadar Hemoglobin

		Uji Homogenitas
	Kelompok	Nilai <i>P</i>
Kadar Hemoglobin	K1	0,906*
	K2	
	K3	
	P1	
	P2	

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa data Kadar hemoglobin semua kelompok normal dan homogen dikarenakan signifikansi nilai p mencapai $P > 0,05$. Hasil uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene's Test* menandakan data berdistribusi normal dan juga homogen, maka data dapat diuji dengan *one way ANOVA*.

4.1.3. Analisis Multivariat

Data diuji dengan *One Way Anova* dengan hasil seperti dibawah ini :

Tabel 4.4. Hasil Uji One Way Anova

Kelompok	Nilai <i>P</i>
K1	0,687
K2	
K3	
P1	
P2	

Keterangan : * = $p < 0,05$

Berdasarkan pengujian *One Way Anova* diperoleh hasil tidak ditemukan perbedaan kadar hemoglobin yang signifikan antar kelompok sampel yang diamati melalui nilai $p (0,687) > 0,05$.

4.2. Pembahasan

Penelitian ini berjenis eksperimental dengan rancangan penelitian *post-test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi vitamin D. Hasil penelitian menyatakan tidak ada perbedaan secara statistik namun terdapat peningkatan secara klinik kadar hemoglobin pada kelompok P1 dan P2 . Pada kelompok P1 dan P2 dibandingkan K1 dan K2 mengalami peningkatan kadar hemoglobin yang tidak signifikan. Hal ini menandakan pemberian vitamin D memberikan efek yang tidak bermakna terhadap peningkatan kadar hemoglobin pada tikus. Penelitian Rusmini (2019) menyatakan hal yang tidak sejalan yaitu terjadi peningkatan kadar hemoglobin yang signifikan pada kelompok yang dipapar asap rokok dan diberi vitamin D dibandingkan kelompok yang diberikan paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin D, karena vitamin D dapat menstimulasi eritropoiesis dengan menghambat sitokin proinflamasi dan menstimulasi peningkatan proliferasi sel progenitor eritroid sehingga penurunan eritrosit dapat dicegah. Vitamin D mampu mengurangi radikal bebas sehingga mencegah terjadinya kerusakan sel akibat efek paparan asap rokok (Sen *et al.*, 2010). Vitamin D juga mencegah stres oksidatif yang dapat menghilangkan

fluiditas dan mengaktifkan serta meningkatkan fragilitas LPO sehingga menurunkan status antioksidan eritrosit dan eritrosit mudah lisis (Sailaja *et al.*, 2003). Eritrosit yang lisis akan mengakibatkan terbebasnya hemoglobin ke dalam plasma, sehingga hemoglobin berkurang (Ratnaningtyas, 2010).

Pada kelompok K1 kadar hemoglobin lebih tinggi dari kelompok K2 tetapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan dimana kedua kelompok tidak diberi vitamin D. Hal ini diduga karena perbedaan frekuensi paparan asap rokok dari kedua kelompok tersebut. Selain lama penelitian, jumlah batang rokok dan frekuensi paparan asap rokok juga memiliki efek terhadap perbedaan kadar hemoglobin. Penelitian sebelumnya mengatakan terdapat perbedaan yang signifikan pada perbedaan dosis paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin dan tidak ada perbedaan signifikan antara paparan asap rokok 2 batang perhari dan 4 batang perhari (Meikawati, Wulandari, 2013). Perbedaan ini dikarenakan adanya produksi enzim eritropoietin dalam keadaan hipoksia. Eritropoietin kemudian terdistribusi di dalam darah dalam jangka waktu satu sampai dua hari dan dalam jangka waktu kerja tersebut akan terjadi eritropoiesis di sumsum tulang belakang sehingga terjadi peningkatan kecepatan produksi sel darah merah, dan kompensasi tersebut dapat terjadi minimal satu sampai dua hari setelah paparan (Hall dan Guyton, 2011). Pada setiap eritrosit berisi kurang lebih 640 juta molekul hemoglobin (Hoffbrand, *et al.*, 2018). Jika eritrosit rendah maka jumlah molekul hemoglobin rendah sehingga akan memiliki efek terhadap kadar hemoglobin. Penelitian dari Katari (2017) juga menyebutkan

jika paparan asap rokok diberikana dalam waktu 15 hari tidak menunjukkan perbedaaan kadar hemoglobin yang signifikan, tetapi pada hari ke 30 terdapat jumlah penurunan hemoglobin yang bermakna. Rusmini (2019) menyebutkan terdapat pengaruh paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin dengan frekuensi paparan 8 batang rokok perhari. Serta didukung penelitian Muhammad (2009) yang menyatakan hal yang sama terdapat pengaruh terhadap kadar hemoglobin dari paparan asap rokok dengan frekuensi 4 batang/60 menit/hari. Pada penelitian ini dilakukan paparan asap rokok 2x4 dan 1x8 tiap 2 hari sekali sehingga menimbulkan efek yang lebih kecil dan memberikan waktu yang cukup untuk tubuh melakukan kompensasi.

Pada kelompok P1 dan P2 terdapat peningkatan pada kadar hemoglobin dibandingkan dengan kelompok K1, K2 dan K3 walaupun tidak signifikan. Penelitian sebelumnya oleh Susanti dan Wirjatmadi (2016) yang menyebutkan bahwa paparan asap rokok dapat menurunkan kadar hemoglobin didalam tubuh, dan pemberian antioksidan dapat digunakan untuk membantu meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi paparan asap rokok. Keberadaan asap rokok dapat mengakibatkan stres oksidatif yang merupakan dampak dari radikal yang terdapat didalam asap rokok. Kandungan timbal atau Pb pada asap rokok memiliki efek hematotoksik sehingga akan menghambat enzim yang terlibat pada metabolisme heme dan mengakibatkan kadar hemoglobin menurun (Palar, 2004). Kandungan nikotin juga dapat menyebabkan CO lebih aktif dan lebih

kuat dalam mengikat hemoglobin sehingga terjadi penurunan hemoglobin didalam tubuh. CO memiliki kemampuan lebih kuat mengikat hemoglobin dari oksigen yaitu 230-270 kali lebih kuat (Triyono *et al.*, 2019). Peningkatan kadar hemoglobin ini merupakan efek dari pemberian vitamin D yang berperan sebagai antioksidan. Vitamin D melalui *non-enzymatic low molecular weight antioxidants* akan menurunkan ROS dengan meningkatkan GSH, *glutamate – cysteine ligase* (GCL), dan *Glutathione Reductase* (GR) (Welbourn *et al.*, 2017). GR merupakan enzim kunci dalam sintesis GSH, dan stimulasi GR akan membentuk proses sintesis GSH sehingga akan terjadi peningkatan kadar GSH di hepar. Selain itu juga terjadi peningkatan TAC akibat stimulasi dari sintesis GSH yang merupakan biomarker antioksidan (Mokhtari *et al.*, 2017). Sedangkan melalui antioksidan enzimatis vitamin D akan menekan lipid peroksidase dan meningkatkan aktivitas SOD (Ahumibe & Braide, 2009). SOD merupakan garis awal pertahanan antioksidan seluler terhadap stres oksidatif (Mokhtari *et al.*, 2017). Sehingga *Red Blood Cell Storage Lesion* yang diakibatkan oleh stimulasi stres oksidatif untuk mengaktivasi lipid peroksidase dapat dicegah melalui dua jalur tersebut dan terjadi proses eritropoiesis (Welbourn *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan yang signifikan disemua kelompok, hal ini diduga akibat lama penelitian yang terlalu singkat, paparan asap rokok yang terlalu, sehingga proses pemulihan dari vitamin D kurang optimal. Penelitian sebelumnya mengatakan paparan asap rokok

yang dilakukan selama 28 hari secara signifikan memperlihatkan penurunan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi paparan asap rokok dengan rerata kadar hemoglobin sebesar $12,84 \pm 0,84$ gr/dl dan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak melon dengan hasil rerata hemoglobin tertinggi $14,70 \pm 0,48$ gr/dl. Hal ini karena CO yang mengikat hemoglobin akan menggantikan oksigen yang berikatan dengan hemoglobin dan mengubahnya menjadi HbCO sehingga hemoglobin tidak bisa mengangkut oksigen dan terjadi hipoksia. Dalam keadaan hipoksia akan terjadi peningkatan produksi 2,3 difosfoglisarat dan mengurangi kemampuan mengikat hemoglobin terhadap oksigen. Melon mengandung karotenoid sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas, selain itu terdapat aktifitas SOD pada melon yang akan melindungi dan mencegah sel-sel tubuh dari peradangan akibat radikal bebas. Peningkatan aktifitas *Super Oxyde Dismutase* akan mencegah penurunan kadar hemoglobin dengan terjadinya apoptosis hepatosit yang menurun dan resistensi yang meningkat terhadap hemolisis dan eritrosit (Susanti dan Wirjatmadi, 2017). Sedangkan pada penelitian ini hanya dilakukan perlakuan selama 14 hari, sehingga untuk mengetahui terjadinya proses peningkatan kadar hemoglobin membutuhkan waktu yang lebih lama. Penelitian Muhammad (2009) juga menunjukkan hasil yang berbeda yaitu kadar hemoglobin pada kelompok pemaparan asap rokok lebih rendah dibanding kelompok kontrol, dan kadar hemoglobin lebih tinggi pada kelompok terpapar asap rokok dan diberi vitamin C dari kelompok terpapar tanpa pemberian vitamin C yang

dilaksanakan selama 6 bulan sehingga dapat dijadikan pembanding untuk pemberian antioksidan antara vitamin D dan vitamin C.

Keterbatasan pada penelitian ini adalah waktu pelaksanaan penelitian yang kurang lama, kurang lamanya paparan asap rokok yang dilakukan terhadap tikus, dan cara pemberian vitamin D dengan menggunakan sondase, serta tidak adanya suplementasi tambahan untuk meningkatkan kadar hemoglobin.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1. Tidak terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberikan paparan asap rokok.
- 5.1.2. Tidak terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap kadar hemoglobin pada tikus *Rattus Norvegicus* yang diberi vitamin D baik pada kelompok yang terpapar satu kali, dua kali, dengan kelompok control.

5.2. Saran

- 5.2.1. Dapat dilakukan penelitian dalam waktu yang lebih lama sehingga dapat menyempurnakan penelitian ini.
- 5.2.2. Dapat dilakukan penelitian mengenai lama paparan asap rokok sehingga dapat lebih mengetahui pengaruh paparan rokok terhadap kadar hemoglobin.
- 5.2.3. Dapat dilakukan metode lain dalam pemberian vitamin D sehingga dapat dibandingkan keefektifan dari pemberian vitamin D.
- 5.2.4. Penambahan antioksidan lain berupa vitamin C sebagai suplementasi tambahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahumibe, A. A., & Braide, V. B. (2009). Effect Of Gavage Treatment With Pulverised Garcinia Kola Seeds On Erythrocyte Membrane Integrity And Selected Haematological Indices In Male Albino Wistar Rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 24(1), 47–52. <https://doi.org/10.4314/njps.v24i1.46380>
- Amelia, R., Nasrul, E., & Basyar, M. (2016). Hubungan Derajat Merokok Berdasarkan Indeks Brinkman dengan Kadar Hemoglobin. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(3), 619–624. <https://doi.org/10.25077/jka.v5i3.587>
- Asif, M., Karim, S., Umar, Z., Malik, A., Ismail, T., Chaudhary, A., Alqahtani, M. H., & Rasool, M. (2013). Effect of cigarette smoking based on hematological parameters: Comparison between male smokers and nonsmokers. *Turkish Journal of Biochemistry*, 38(1), 75–80. <https://doi.org/10.5505/tjb.2013.68077>
- Bakhtiar, A., & Tantri, R. I. E. (2019). Faal Paru Dinamis. *Jurnal Respirasi*, 3(3), 89. <https://doi.org/10.20473/jr.v3-i.3.2017.89-96>
- Byeon, H. (2015). The association between lifetime cigarette smoking and dysphonia in the Korean general population: Findings from a national survey. *PeerJ*, 2015(3), 1–11. <https://doi.org/10.7717/peerj.912>
- Ernawati, F., & Budiman, B. (2015). Current Vitamin D Status of Indonesian Children Age 2 - 12,9 Years Old. *Gizi Indonesia (Publication in Bahasa Indonesia)*, 38(1)(November), 73–80.
- Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2011). Guyton and Hall Physiology Review. In *Guyton and Hall Physiology Review*. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781416054528000202>
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), 299–308. <https://doi.org/10.33096/jffi.v5i2.414>
- Hanifiati, H. (2019). Pengaruh Pemberian Vitamin D Terhadap Penurunan Jumlah Trombosit pada Mencit Model Ulcerative Colitis (Uc).
- Harlev, A., Agarwal, A., Gunes, S. O., Shetty, A., & du Plessis, S. S. (2015). Smoking and Male Infertility: An Evidence-Based Review. *The World*

- Journal of Men's Health*, 33(3), 143.
<https://doi.org/10.5534/wjmh.2015.33.3.143>
- Hendratta, C., & Lefrandt, R. L. (2013). Anemia Pada Gagal Jantung. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 2(3), 133–139.
<https://doi.org/10.35790/jbm.2.3.2010.1191>
- I, M. (2009). Efek Antioksidan Vitamin C Terhadap Tikus (*Rattus novogicus L*) Jantan Akibat Pemaparan Asap Rokok. *Dissertation*.
- Katari, H. L., Getas, W., Resnhaleksmana, E., Jurusan, A., Kesehatan, K., & Mataram, I. (2017). Lama Paparan Asap Rokok Terhadap Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, 4(2), 74–80.
- Legowo, G. (2016). Manfaat Madu sebagai Antioksidan dalam Melawan Radikal Bebas dari Asap Rokok untuk Menjaga Kualitas Sperma. *Majority*, 4(8), 41–46.
- Louisa, M., & Paramita. (2017). Berbagai Manfaat Vitamin D. *Departemen Farmakologi Dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia*, 44(10), 736–740.
- Meikawati, Wulandari, S. (n.d.). PENGARUH DOSIS PAPARAN ASAP ROKOK TERHADAP JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN (Studi Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar). *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 8(2), 55–64.
- Mokhtari, Z., Hekmatdoost, Z., & Nourian, M. (2017). Antioxidant efficacy of vitamin D. *Journal of Parathyroid Disease*, 5(1), 11–16.
<http://www.jparathyroid.com>
- Muhammad, I. (2009). Efek Antioksidan Vitamin C Terhadap Tikus (*Rattus novogicus L*) Jantan Akibat Pemaparan Asap Rokok. *Dissertation*.
- Pratama, A. N., & Busman, H. (2020). Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine Max L*) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 497–504. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.333>
- Pusparini, P. (2018). DEFISIENSI VITAMIN D TERHADAP PENYAKIT (Vitamin D Deficiency and Diseases). *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 21(1), 90.
<https://doi.org/10.24293/ijcpml.v21i1.1265>
- Puspitasari, Aliviameita, A., Evi, R., Rizka, Y. Y. A., & Sukma, S. N. (2020). Perbedaan Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Antara Metode Point of Care Testing Dengan Metode Sianmethemoglobin Pada Ibu Hamil The difference in Hemoglobin Test Results Between Point of Care Testing

Method with the Cyanmethemoglobin Method in Pregnant Women .
Analisis Kesehatan, 9(4), 24–28.

- Ratnaningtyas, N. (2010). *Kedokteran, Fakultas Maret, Universitas Sebelas*. 61.
- Rodwell, V. W. (2015). *Illustrated Biochemistry Thirtieth Edition*.
- Rusmini, H., Fitriani, D., Hermawan, D., & Emilda, D. A. (2019). Pengaruh Vitamin D3 Terhadap Kadar Hemoglobin Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok. *ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(1), 22–28. <https://doi.org/10.37148/arteri.v1i1.13>
- Safitri, R. N., & Syahrul, F. (2015). The Risk of Exposure to Cigarette Smoke in Anemia During Pregnancy. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 3(3), 327. <https://doi.org/10.20473/jbe.v3i32015.327-339>
- Sailaja, Y. R., Baskar, R., & Saralakumari, D. (2003). The antioxidant status during maturation of reticulocytes to erythrocytes in type 2 diabetics. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(2), 133–139. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00071-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00071-6)
- Šebeková, K., Stürmer, M., Fazeli, G., Bahner, U., Stáb, F., & Heidland, A. (2015). Is vitamin D deficiency related to accumulation of advanced glycation end products, markers of inflammation, and oxidative stress in diabetic subjects? *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/958097>
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91–100.
- Susanti, Y. E., & Wirjatmadi, B. (2017). EFEK EKSTRAK MELON (Cucumis melo) dan Gliadin TERHADAP KADAR Hb DAN HbCO TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIPAPAR ASAP ROKOK. *The Indonesian Journal of Public Health*, 11(1), 78. <https://doi.org/10.20473/ijph.v11i1.2016.78-88>
- Triyono, S., Trisnawati, E., & Hernawan, A. D. (2019). Hubungan Antara Paparan Asap Rokok dengan Kadar Hemoglobin pada Perokok Pasif di Desa Keraban Kecamatan Subah Kabupaten Sambas. *Jumantik*, 6(1), 27–34.
- Welbourn, E. M., Wilson, M. T., Yusof, A., Metodiev, M. V., & Cooper, C. E. (2017). The mechanism of formation, structure and physiological relevance of covalent hemoglobin attachment to the erythrocyte membrane. *Free Radical Biology and Medicine*, 103(February 2016), 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.024>

WHO. (2015). *WHO global report on trends in prevalence of tobacco smoking*.
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/156262/9789241564922_eng.pdf;jsessionid=18318DE7B3C3CE50967CF3B71C8B4B5D?sequence=1.

