

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEKS (PPI)

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor* L) DALAM
MENGHAMBAT KECACATAN FETUS MENCIT BUNTING
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**



Tim Pengusul :

- | | | |
|----------------------------------|---------|--------------|
| 1. Kriana Efendi, M. Farm., Apt. | Ketua | (0321088001) |
| 2. Dwitiyanti, M.Farm., Apt. | Anggota | (0305058203) |

Nomor Surat Kontrak Penelitian : 758/F.03.07/2019
Nilai Kontrak : Rp 16.000.000,-

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020

LEMBAR PENGESAHAN
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)

1. Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L) dalam Menghambat Kecacatan Fetus Mencit Bunting yang Terpapar Asap Rokok
2. Ketua Peneliti
 - a. Nama Lengkap : Kriana Efendi, M.Farm., Apt.
 - b. NIDN : 0321088001
 - c. Jabatan Fungsional : Lektor
 - d. Fakultas/ Program Studi : Farmasi dan Sains/ Farmasi
 - e. Telepon : 081317486734
 - f. Alamat Email : krianaefendi@gmail.com
3. Anggota Peneliti
 - a. Nama Lengkap : Dwitiyanti, M.Farm., Apt.
 - b. NIDN : 0305058203
 - c. Fakultas/ Program Studi : Farmasi dan Sains/ Farmasi
4. Lama Penelitian : 6 Bulan
5. Luaran Penelitian : Jurnal Nasional Terakreditasi Sinta 3
6. Biaya Penelitian : Rp 16.000.000,-

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Kori Yati, M.Farm., Apt.
NIDN : 0324067802

Menyetujui
Dekan,

Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt.
NIDN : 0325067201

Jakarta, 17 April 2020
Ketua Peneliti,



Kriana Efendi, M.Farm., Apt.
NIDN : 0321088001

Ka.Lemlitbang

Prof. Dr. Suswandari, M.Pd.
NIDN : 0020116601



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA 110
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809 91

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK KERJA PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA**

Nomor : 758 / F.03.07 / 2019
Tanggal : 20 November 2019

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Rabu, tanggal Dua Puluh, bulan November, tahun Dua Ribu Sembilan Belas, yang bertanda tangan di bawah ini **Prof. Dr. Hj Suswandari, M.Pd**, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai PIHAK PERTAMA; **KRIANA EFENDI S.Si., Apt., M.Farm.**, selanjutnya disebut sebagai PIHAK KEDUA.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didanai oleh RAPB Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L) dalam Menghambat Kecacatan Fetus Mencit Bunting yang terpapar Asap Rokok dengan luaran wajib dan luaran tambahan sesuai data usulan penelitian Batch 1 Tahun 2019 melalui simakip.uhamka.ac.id.**

Pasal 2

Bukti luaran penelitian wajib dan tambahan harus sesuai sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1, Luaran penelitian yang dimaksud dilampirkan pada saat Monitoring Evaluasi dan laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 20 November 2019 dan selesai pada tanggal 20 April 2020.

Pasal 4

PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.16.000.000,- (Terbilang : *Enam Belas Juta*) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA melalui Lembaga Penelitian dan Pengembangan.

Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut;
(1) Termin I 70 % : Sebesar 11.200.000 (Terbilang: *Sebelas Juta Dua Ratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

(2) Termin II 30 % : Sebesar 4.800.000 (Terbilang: *Empat Juta Delapan Ratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

Pasal 6

(1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3.

(2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1.

(3) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5 % (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.

(4) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) pada poin honor peneliti sebesar 5 % (lima persen)

Jakarta, 20 November 2019

PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Prof. Dr. Hj Suswandari, M.Pd.
S.Si., Apt., M.Farm.

PIHAK KEDUA
Peneliti,

KRIANA EFENDI

Mengetahui
Wakil Rektor II UHAMKA

Dr. ZAMAH SARI M.Ag.

ABSTRAK

Kandungan antioksidan ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor* L) diduga dapat menghambat efek buruk dari paparan asap rokok terhadap janin. Efek buruk asap rokok terhadap janin yaitu berat fetus lahir rendah serta kematian fetus. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh pemberian ekstrak bayam merah terhadap berat badan fetus mencit yang induknya terpapar asap rokok selama masa kehamilan . Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor, kontrol normal, kontrol negatif, dosis I 6,75 mg/20 gBB, dosis II 13,5 mg/20 gBB, dosis III 27mg/20 gBB. Parameter yang diamati adalah berat badan fetus, kecacatan pada fetus dan jumlah fetus. Data persentase berat badan dianalisis menggunakan uji ANOVA *one way* dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua kelompok uji ekstrak bayam merah dapat menghambat kecacatan pada fetus karena berbeda bermakna dengan kontrol negatif. Dosis efektif yang dapat menghambat terdapat pada dosis II 13,5 mg/20gBB sebanding dengan kontrol normal karena tidak terdapat perbedaan bermakna.

Kata kunci : *Amaranthus tricolor* L, asap rokok, kecacatan, janin.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT KONTRAK PENELITIAN	iii
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI	Vi
DAFTAR TABEL	vii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
B. Hipotesis	14
C. Roadmap Penelitian	15
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	16
A. Tempat dan Waktu Penelitian	16
B. Metode Penelitian	16
C. Prosedur Penelitian	17
D. Parameter yang diamati	25
E. Analisis Data	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
BAB 5. KESIMPULAN	33
BAB 6. LUARAN YANG DICAPAI	34
BAB 7. RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI	35
DAFTAR PUSTAKA	36
Lampiran – lampiran	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Organogenesis pada Hewan Uji	14
Tabel 2. Perlakuan Hewan Uji	20
Tabel 3. Hasil Ekstraksi Daun Bayam Merah	26
Tabel 4. Karakteristik Ekstrak Bayam Merah	27
Tabel 5. Hasil Susut Pengeringan dan Rendemen Ekstrak	27
Tabel 6. Penapisan Fitokimia	27
Tabel 7. Parameter Kecacatan	28
Tabel 8. Data Berat Rata-Rata Fetus	29

BAB 1. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Di Indonesia, sekitar 65,6 juta wanita dan 43 juta anak-anak terpapar asap rokok atau menjadi perokok pasif. Banyak warga Indonesia terpapar asap rokok karena 91,8% perokok merokok di rumah (Hanum 2016). Ibu hamil yang merokok selama kehamilan berhubungan dengan efek yang merugikan pada ibu dan janin seperti gangguan pertumbuhan janin, berat bayi lahir rendah, dan kematian janin. Efek serupa juga dilaporkan terjadi pada ibu hamil yang terpapar asap rokok lingkungan (Hayfa dkk. 2013). Terdapat hubungan signifikan ditemukan antara paparan asap rokok lingkungan dengan berat bayi lahir rendah. Bayi yang lahir dengan berat badan lahir rendah (BBLR) lebih besar persentasenya dibandingkan dengan berat badan lahir normal pada ibu hamil perokok pasif (Yoshihiro dkk. 2013).

Asap rokok sangat banyak mengandung campuran racun yang kompleks, beberapa dari racun tersebut adalah radikal bebas. Asap rokok dapat diuraikan menjadi gas dan partikulat, tiap bentuk tersebut mempunyai zat kimia yang berbeda. Secara keseluruhan bentuk gas mengalami oksidasi sedangkan bentuk partikulat mengalami reduksi. Beberapa unsur pokok pada asap rokok dalam bentuk gas diantaranya adalah amonia, karbon monoksida, carbon dioksida, nitrogen oksida, nitrogen dioksida dan hidrogen sianida. Sedangkan dalam bentuk partikulat diantaranya adalah tar, nikotin, metal (seperti kadmium, timah, nikel, besi kromium, arsenik). Kandungan karbon monoksida dan nikotin bahaya bagi ibu hamil dimana nikotin yang terkandung dalam asap rokok dapat merusak fungsi vaskular uterus, sehingga akan menyebabkan resistensi pembuluh darah meningkat dan menurunkan aliran darah ke uterus (Xiao dkk. 2007). Karbon monoksida dari rokok yang terisap oleh ibu hamil akan terbawa ke aliran darah ibu sehingga menyebabkan penerimaan oksigen bayi maupun plasenta berkurang. Hal ini akan mengakibatkan kematian sel karena kekurangan oksigen. Hipoksia pada janin dan menurunnya aliran darah dapat menyebabkan gangguan

pertumbuhan, menurunkan penerimaan nutrisi pada janin sehingga menyebabkan bayi berat lahir rendah (Ahadina 2014).

Dengan kandungan zat kimia tersebut, maka dapat dipastikan asap rokok memiliki radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan, dimana tar yang terdapat dalam asap rokok memiliki sedikitnya 4 jenis radikal bebas, salah satunya adalah semiquinon yang akan mengalami oksidasi reduksi sehingga dapat merusak DNA. Kandungan lain yang terdapat di asap rokok yaitu Nitrogen dioksida yang dapat merusak membran dengan memulai proses peroksidasi lipid, sehingga dapat menyebabkan vasokonstriksi mengakibatkan tidak dapatnya oksigen berikatan dengan hemoglobin (Halliwell and Gutteridge 1999).

Produksi radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat memicu terbentuknya stress oksidatif. Stress oksidatif dapat dicegah dengan asupan antioksidan, antioksidan alami tidak cukup menangkal radikal bebas yang terdapat pada asap rokok, maka perlu penambahan antioksidan dari luar tubuh. Salah satu antioksidan yang memiliki kadar antioksidan tinggi yaitu Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang mengandung beta karoten, riboflavin, antosianin, vitamin A, vitamin C, vitamin B6, zat besi betalains dan flavonoid (Rajalaksmi 2011). Bayam merah memiliki IC50 sebesar 4,32 µg/mL sebagai pembanding digunakan vitamin C dengan kadar IC50 sebesar 3,80 µg/mL, sehingga daun bayam merah memiliki potensial aktivitas antioksidan yang sangat kuat karna lebih kecil dari 50 µg/mL (Syaifuddin 2015). Pada penelitian sebelumnya bayam merah mampu menghambat kerusakan pada morfologi stratum hipokampus karena terpapar timbal asetat selama dalam kandungan (Kalanjati dkk. 2014). Pada penelitian Wuri dkk. (2017) bayam merah dapat mencegah peningkatan ALP serum mencit yang diinduksi isoniazid.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini akan dilakukan dengan melihat kemampuan ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus Tricolor* L.) dalam menghambat efek buruk dari paparan asap rokok terhadap mencit bunting. Berdasarkan penelusuran pustaka, penelitian tentang aktivitas antioksidan yang di papar asap rokok terhadap mencit putih bunting mengenai daun tanaman ini belum

ditemukan. Oleh karena itu perlu dibuktikan apakah tanaman ini dapat menghambat efek buruk dari asap rokok dengan melihat kecacatan pada fetus mencit.

Rokok yang digunakan adalah rokok kretek, dimana pada penelitian Andriyani dkk (2015) rokok kretek dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas pada fetus, terutama pada pertulangan fetus. Asap rokok di papar pada saat 6 hari kehamilan sampai dengan 15 hari masa kehamilan, pemaparan asap rokok sebanyak 4 batang rokok sehari dengan 2 kali pemaparan. Pada kelompok dosis dilakukan pemaparan asap rokok terlebih dahulu, setelah 30 menit baru ekstrak daun bayam merah diberikan pada mencit. Dosis diambil dari dosis efektif ekstrak etanol bayam merah dalam menghambat kerusakan hati yang diinduksi isoniazid yaitu pada penelitian Wuri dkk (2017) dengan dosis I 6,75 mg/20 gBB, dosis II 13,5 mg/20 gBB dan dosis III 27mg/20 gBB . Pada usia kehamilan ke 18, mencit di korbakan untuk melihat abnormalitas yang terjadi pada fetus.

B. Permasalahan Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas, maka permasalahan pada penelitian ini adalah apakah ekstrak etanol 70% daun bayam merah dapat menghambat kecacatan pada mencit bunting yang dipapar asap rokok?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol 70% bayam merah dalam menghambat kecacatan janin akibat paparan dari asap rokok.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi bahwa asap rokok berbahaya bagi ibu hamil, serta mampu memberikan informasi bahwa daun bayam merah dapat berkhasiat sebagai antioksidan sehingga perlu diberikan pada ibu hamil untuk menghambat kecacatan pada janin akibat paparan asap rokok.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Tanaman Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

a. Klasifikasi Tanaman Bayam Merah

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Amaranthaceae
Genus	: <i>Amaranthus</i>
Spesies	: <i>Amaranthus tricolor</i> L (Rukmana 1994).

b. Morfologi Tanaman

Bayam merah berasal dari amerika tropik. Di indonesia,bayam dapat tumbuh sepanjang tahun dan ditemukan pada ketinggian 5-2.000 mdpl, tumbuh di daerah panas dan dingin.

Herba setahun, tegak atau agak condong, tinggi 0,4-1 m, dan bercabang. Batang lemah dan berair. Daun bertangkai dan berbentuk bulat telur, lemas, panjang 5-8 cm, ujung tumpul, pangkal runcing, serta warnanya merah. Bunga dalam tukul yang rapat, bagian bawah duduk di ketiak, bagian atas berkumpul menjadi karangan bunga di ujung tangkai dan ketiak percabangan. Bunga berbentuk bulir (Setiawan 2003).

c. Kandungan kimia

Bayam merah memiliki kandungan zat besi, flavanoid, tanin, niacin, mineral (kalsium, mangan, fosfor dan zat besi), serat, karotenoid, klorofil, alkaloid, polifenol pada batang dan vitamin seperti vitamin C ,vitamin E, dan vitamin A (Setiawan 2003).

d. Manfaat Tumbuhan

Secara umum, tanaman bayam merah dapat meningkatkan kerja ginjal dan melancarkan pencernaan. Akar bayam merah berkhasiat sebagai obat disentri (Setiawan 2003).

2. Radikal Bebas

a. Pengertian

Radikal bebas adalah molekul dengan tingkat reaktifitas yang tinggi atau zat kimia yang mampu berdiri sendiri. Suatu atom atau molekul akan tetap stabil bila elektronnya berpasangan, untuk mencapai kondisi stabil tersebut, radikal bebas dapat menyerang bagian tubuh seperti sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada sel tersebut dan berimbas pada kinerja sel, jaringan dan akhirnya pada proses metabolisme tubuh (Ikhlas 2013). Radikal bebas memiliki waktu paruh yang singkat, berkisar hitungan mili-, mikro- atau nanodetik. Hal ini dikarenakan radikal bebas memiliki elektron sunyi sehingga sangatlah tidak stabil serta sangat reaktif dan dengan mudah menjadi reaksi yang tidak terkontrol. Dalam tubuh, radikal bebas akan mencari donor elektron untuk mengisi kekurangan elektronnya. Donor ini biasanya karbohidrat, protein atau enzim, lemak, dan DNA di sel atau jaringan. Hal ini tentu akan menyebabkan kerusakan pada zat tersebut. Akibat kerusakan tersebut, terjadilah antara lain kerusakan membran sel, modifikasi protein, kerusakan DNA, dan peroksidasi lemak. Kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas tersebut disebut dengan stres oksidatif. Kerusakan tersebut bila terjadi terus menerus akan menyebabkan penuaan dini pada kulit, penyakit seperti kanker, inflamasi kronik di saluran pencernaan, disfungsi organ, dan sebagainya. Dimana stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara pengaruh degeneratif dari ROS (*reactive oxygen species*) dengan pertahanan antioksidan (Singh et al 2004; Devasagayam et al 2004).

Tubuh memiliki pertahanan antioksidan dalam bentuk enzim antioksidan (*antioxidant defense*) dan zat antioksidan untuk menetralkan radikal bebas. Akan tetapi, karena pesatnya perkembangan industri, sehingga manusia berkontak langsung dengan berbagai sumber radikal bebas yang berasal dari lingkungan dan

dari kegiatan fisik yang tinggi sehingga sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh tidak memadai. Maka dibutuhkan tambahan antioksidan yang cukup karena spesies oksidatif yang tinggi dapat menyebabkan kematian (Silalahi 2006).

Contoh dari radikal bebas adalah spesies oksigen yang reaktif atau *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan spesies nitrogen yang reaktif atau *Reactive Nitrogen Spesies* (RNS). Contoh dari ROS antara lain superoksida (O_2^-), hidroksil (OH), peroksil (ROO), alkoksi (RO), oksigen *singlet* (O). Contoh dari RNS antara lain Nitrit oksida (NO) (Singh et al 2004; Devasagayam et al 2004).

b. Sumber radikal bebas

Radikal bebas dalam tubuh manusia berasal dari dua sumber yaitu sumber endogen dan eksogen (Iswari 2011).

1) Sumber endogen

Contoh sumber endogen adalah proses auto-oksidasi, oksidasi enzimatis, dan *respiratory burst*. Proses auto-oksidasi merupakan produk proses metabolisme aerobik. Molekul yang mengalami auto-oksidasi berasal dari katekolamin, hemoglobin, mioglobin, sitokrom C yang tereduksi, dan tiol. Auto-oksidasi itu menghasilkan reduksi oksigen di radikal dan pembentukan kelompok reaktif oksigen.

Oksidasi enzimatis adalah suatu proses dimana beberapa sistem enzim mampu menghasilkan radikal bebas, seperti *xanthine oxidase (activated in ischemiareperfusion)*, *prostaglandin synthase*, *lipo-oxygenase*, *aldehyde oxidase*, dan *amino acid oxidase*.

Respiratory burst merupakan terminologi yang digunakan untuk menggambarkan proses dimana sel fagositik menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar selama berlangsungnya fagositosis. Sekitar 70 hingga 90% penggunaan oksigen tersebut dapat diperhitungkan dalam produksi superoksida.

2) Sumber eksogen

Contoh sumber eksogen adalah obat-obatan, radiasi matahari, dan asap rokok, dan asap kendaraan bermotor.

3. Antioksidan

a. Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektrolit yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Prakash 2001).

Khusus untuk melindungi pengaruh radikal bebas, tubuh mempunyai sistem pertahanan yang meliputi enzim dan zat tertentu. Enzim katalase dan glutathion peroksidase berperan mengeluarkan H_2O_2 , superoksida dismutase (SOD) mengeluarkan O_2 dengan mengubahnya menjadi H_2O_2 . Daya penangkap radikal bebas ini diperkuat oleh antioksidan biologis terutama vitamin antioksidan seperti vitamin C, Vitamin E, dan β -Karoten.

b. Jenis Antioksidan

Antioksidan dalam tubuh dibedakan atas 3 kelompok, yaitu : (Silalahi 2006)

1) Antioksidan primer

Bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan, misalnya glutathion peroksidase, flavonoid, dan senyawa tiol.

2) Antioksidan sekunder

Berfungsi menangkap radikal bebas dan menghalangi terjadinya reaksi berantai, misalnya vitamin C, vitamin E, dan β -karoten.

3) Antioksidan tersier

Bermanfaat untuk memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh radikal bebas, misalnya DNA *repairenzime*

4. Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Hanani 2016).

Dengan kata lain, ekstraksi adalah suatu cara penarikan kandungan kimia dari simplisia dengan cara dan pelarut yang cocok agar kandungan kimia yang dapat larut terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes RI 2000). Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Terdapat beberapa metode ekstraksi dengan pelarut cair, antara lain cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, serta cara panas yaitu refluks, soxhletasi, digesti, infusa dan dekokta. Pemilihan metode dilakukan dengan memerhatikan antara lain sifat senyawa, pelarut yang digunakan dan alat tersedia. Struktur untuk setiap senyawa, suhu dan tekanan merupakan faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi (Hanani 2016).

5. Asap Rokok

Rokok merupakan salah satu olahan tembakau dengan menggunakan bahan ataupun tanpa bahan tambahan. Rokok dengan bahan tambahan berupa cengkeh disebut rokok kretek, sedangkan rokok tanpa bahan tambahan cengkeh disebut sebagai rokok putih (Sukmaningsih 2009). Selain salah satu olahan tembakau, rokok juga merupakan salah satu zat adiktif yang bila digunakan dapat mengakibatkan bahaya kesehatan bagi individu dan masyarakat (Aina 2005).

Setiap satu batang rokok yang dibakar, maka akan menghasilkan sekitar 4000 macam bahan kimia, diantaranya ada 400 macam bahan kimia tersebut bersifat toksik seperti bahan karsinogen, tar, nikotin, nitrosamin, karbonmonoksida, senyawa PAH (Polynuclear Aromatic Hydrogen), fenol, karbonil, klorin dioksin dan furan. Asap rokok dapat dibedakan menjadi dua, yaitu asap utama (mainstream smoke) atau asap yang dihisap oleh si perokok dan asap samping (sidestream smoke) yang merupakan asap yang terus menerus keluar dari ujung rokok. Asap samping dari rokok memiliki pengaruh yang sangat besar bagi kesehatan perokok pasif, yaitu orang yang berada di lingkungan yang tercemar asap rokok, karena dari sebatang rokok yang terbakar akan dihasilkan asap samping dua kali lebih banyak dari pada asap utama dan bahan berbahaya yang dikandung asap samping lebih tinggi dari pada asap utama (Aina 2005). Asap

rokok yang dihirup oleh perokok aktif maupun perokok pasif, mengandung komponen gas dan partikel. Komponen gas terdiri dari nitrogen dan senyawa hidrokarbon, sedangkan komponen partikel beberapa diantaranya terdiri dari tar, nikotin, benzopiren, fenol dan cadmium (Karim 2011). Namun terdapat tiga komponen toksik utama yang terdapat dalam asap rokok, yaitu karbonmonoksida, nikotin, dan tar.

Rokok dibedakan menjadi beberapa jenis antara lain dibedakan berdasarkan (APTI 2013).

a. Bahan baku atau isi

- 1) Rokok putih : rokok yang bahan baku atau isinya hanya daun tembakau yang diberi perasa atau aroma tertentu.
- 2) Rokok kretek : rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau dan daun cengkeh serta diberikan aroma atau rasa tertentu.
- 3) Rokok klembek : rokok yang bahan baku atau isinya daun tembakau, cengkeh dan juga menyan serta diberi perasa atau aroma tertentu.

b. Rokok berdasarkan penggunaan filter

- 1) Rokok filter (RF) : rokok yang pada bagian pangkalnya terdapat gabus.
- 2) Rokok non filter (RNF) : rokok yang pada bagian pangkalnya tidak terdapat gabus.

Rokok kretek (RNF) mengandung 60-70 tembakau, sisanya 30%-40% cengkeh dan ramuan lain, rokok kretek lebih berbahaya dari pada rokok putih (RF) karena kandungan tar, nikotin, dan karbon monoksidanya lebih tinggi (Prabaningtyas 2010, APTI 2013).

Rokok mengandung bahan berbahaya bagi ibu hamil dan janin, bahan utama yang terkandung dalam rokok dapat membahayakan janin antara lain :

- a. Karbon monoksida (CO) : Karbon monoksida yang terisap akan terbawa ke aliran darah sehingga di dalam darah karbon monoksida berkompetisi dengan oksigen mengikat hemoglobin. Karbon monoksida 200 kali lebih kuat mengikat hemoglobin dibandingkan oksigen sehingga oksigen yang terikat

dengan hemoglobin berkurang sehingga menyebabkan hipoksia pada janin. Hipoksia pada janin dan menurunnya aliran darah umbilikal menyebabkan menurunnya penerimaan nutrisi pada bayi sehingga menyebabkan gangguan pertumbuhan pada janin dan menyebabkan bayi berat lahir rendah (BBLR) (Ahadina 2014).

- b. Nikotin : Nikotin akan menyebabkan perangsangan terhadap hormon katekolamin (Adrenalin) yang bersifat memacu jantung dan tekanan darah, sehingga jantung tidak diberi kesempatan untuk istirahat sehingga tekanan darah semakin tinggi dan menyebabkan timbulnya hipertensi. Hal ini dapat mengubah denyut jantung dan aliran darah umbilikal dan menginduksi hipoksia pada janin (Ahadina 2014).
- c. Timbal : Timbal akan mengikat sel darah merah dan dideposit di hati, ginjal, syaraf, tulang dan gigi. Timbal yang terkumpul dalam skeleton diremobilisasi pada bagian-bagian tubuh setelah absorpsi awal termasuk pada janin yang di kandung saat kehamilan, timbal mempunyai berbagai efek pada sel dan dapat berikatan dengan enzim dapat mengubah dan menghilangkan efek enzim sehingga dapat menyebabkan anemia. Anemia akan mengurangi metabolisme tubuh sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkemabangan janin dalam rahim (Ahadina 2014).

6. Teratologi

Teratologi adalah ilmu yang didasarkan pada penelitian tentang cacat lahir atau kelahiran abnormal. Ilmu ini berkembang karena dikenal banyak faktor lingkungan yang dapat menyebabkan kelainan bawaan pada bayi.

Adanya talidomia diawal tahun 1960 mengejutkan manusia tentang bahaya terhadap bayi dalam uterus yang terpapar obat. Tragedi inilah yang akhirnya memicu penelitian tentang etiologi, pencegahan dan penanganan cacat bawaan. sehingga WHO dan FDA mewajibkan pemeriksaan “Toksistas khusus” untuk semua bahan kimia (Tidak saja obat) secara preklinis (Almahdy 2012).

- a. Panduan kajian teratogen pada hewan uji

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pengujian teratogenik antara lain :

1) Rute pemberian senyawa

Senyawa uji harus diberikan dengan rute yang sama dengan rute pemberian senyawa uji. Kalau senyawa uji adalah senyawa yang diperuntukkan untuk pemberian oral, maka cara demikian juga dilakukan pada hewan uji (Almahdy 2012).

Rute pemberian oral diberikan dengan alat suntik yang dilengkapi dengan jarum/kanula dimasukan ke dalam mulut perlahan lahan, diluncurkan melalui langit-langit kebelakang sampai esofagus. Volume maksimum larutan yang dapat diberikan pada mencit secara oral adalah 1,0 ml (Radji dan Hermita 2005).

2) Waktu pemberian

Pemberian senyawa uji dilakukan selama masa organogenesis. Masa organogenesis merupakan waktu berlangsungnya pembentukan organ, yang berbeda tiap spesies mamalia. Pemberian biasanya dilakukan sekali dalam sehari. Pemberian dilakukan mulai hari ke 6 kehamilan dan berakhir pada hari ke 15 kehamilan. Frekuensi disesuaikan dengan tingkat toksisitas senyawa uji. Senyawa yang praktis tidak toksik dapat diberikan setiap hari, sedangkan senyawa yang toksik dapat diberikan tiga kali atau lima kali selama 10 hari masa organogenesis (Almahdy 2012).

3) Dosis

Prinsip pemberian dosis pada pengujian teratogenik adalah tidak toksik terhadap induk tetapi toksik terhadap fetus. Toksik pada fetus itu misalnya dapat menyebabkan kematian intra uterus, teratogenitas atau penghambatan pertumbuhan (Almahdy 2012).

7. Toksisitas dalam Tahapan Perkembangan

Perkembangan embrio dapat dibagi menjadi 3 tahapan, yaitu tahap pra-implantasi, tahap organogenesis, dan tahap fetogenesis. Dari segi toksikologi perkembangan, ketiganya memiliki kepekaan yang berbeda-beda.

a. Tahap pra-implantasi

Tahap pra-implantasi dimulai dari fertilisasi, pembelahan awal (cleavage), blastulasi hingga gastrulasi awal. Pada tahap ini diferensiasi sel belum berlanjut, atau sering disebut tahap pra-diferensiasi. Apabila satu kelompok sel rusak oleh gangguan agensia toksis masih memungkinkan bagi sel-sel sehat di sekitarnya membelah dan menggantikan posisi dan peran sel rusak tadi. Dengan demikian embrio pulih dan perkembangan dapat berlanjut tanpa ada efek gangguan yang menetap. Sebaliknya jika embrio tidak dapat menoleransi kerusakan itu maka embrio tidak dapat melanjutkan perkembangannya dan mati. Oleh karena itu efek gangguan agensia toksis pada embrio pada tahap pra-implantasi tidak menyebabkan kelainan perkembangan. Periode pra-implantasi terjadi pada umur kebuntingan kurang dari tiga minggu pada manusia atau 1-6 hari pada mencit atau tikus (Hutahean,2002).

b. Tahap organogenesis

Tahap organogenesis adalah tahap ketika sel secara intensif menjalani diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi. Pada tahap ini sel-sel mulai menampilkan perbedaan morfologi yang nyata karena terjadi diferensiasi intensif. Sehingga adanya zat teratogen yang aktif pada tahapan ini dapat menyebabkan gangguan perkembangan organ dan menghasilkan banyak kemungkinan kelainan-kelainan atau cacat bawaan yang teramati waktu lahir. Jenis kelainan tergantung dari organ mana yang paling peka pada saat zat teratogenik tersebut bekerja (Hutahean,2002). Tidak semua organ rentan pada saat yang sama yang sama dalam suatu kehamilan, pada hari ke-8 sampai hari ke-12 sebagian besar embrio tikus sangat rentan, tetapi *palatum* dan organ *urogenital* baru rentan pada tahap berikutnya. Periode ini berkisar antara 3-8 minggu kebuntingan pada manusia dan 6-15 hari kebuntingan pada mencit (Erniati, 2009).

c. Tahap fotogenesis

Fotogenesis adalah tahap dimana sebagian besar organ-organ telah terbentuk. Pada tahap ini embrio sering disebut fetus. Mulai periode fetus adalah ketika diferensiasi organ utama telah terjadi, tetapi diferensiasi genital eksterna, perkembangan susunan saraf pusat, dan penutupan rongga mulut (*palate*) sedang

berlangsung. Selama masa ini adanya zat teratogen dapat menyebabkan kelainan otak, gangguan penutupan *palate* atau *pseudohemaphroditisme*. Apabila efek agensia toksis mengenai embrio ketika sebagian besar organ-organ telah terbentuk dan fetus tinggal melanjutkan pertumbuhan organ-organ lain, maka manifestasi gangguan seperti ini jarang terwujud menjadi kecacatan, melainkan berupa hambatan pertumbuhan dan gangguan fungsi (Erniati, 2009; Hutahean, 2002).

8. Hewan Uji

Pengujian teratogenitas dapat menggunakan tikus, mencit, marmot dan kelinci sebagai hewan uji. Kriteria hewan yang digunakan adalah betina perawan, sehat, umur 12 minggu untuk tikus, 8 minggu untuk mencit dan 5-6 bulan untuk kelinci. Hewan uji harus diaklimatisasi sedikitnya 1 minggu di ruang pengujian. Hewan uji yang digunakan harus seragam spesies, galur, sumber, berat dan umurnya. Hewan betina dikawinkan dengan hewan jantan yang sama spesies dan galurnya dan dihindari perkawinan antara saudara kandung. Hari pembuktian terjadinya perkawinan ditetapkan sebagai awal kebuntingan

(Hari ke -0), ditandai dengan ditemukannya bercak sumbat vagina atau adanya sperma pada vagina yang dilihat secara mikroskopik. Pada saat karantina, setiap kandang tikus atau mencit diisi 5 ekor hewan, sedangkan pada saat dikawinkan kandang diisi 2 ekor jantan dewasa (umur 13 minggu) dan 3 ekor betina dewasa (umur 12 minggu) proesterus (masa prabirahi). Setiap betina yang terbukti telah kawin diletakkan dalam kandang individual (BPOM 2014). Menurut protokol, pemberian senyawa uji dapat dilakukan selama masa organogenesis. Masa organogenesis merupakan waktu berlangsungnya pembentukan organ, yang berbeda tiap spesies mamalia (Almahdy 2012).

9. Fase Estrus

Estrus hewan uji harus ditentukan terlebih dahulu agar dapat dikawinkan pada hari yang tepat. Hewan uji hanya mau dikawinkan pada masa siklus tertentu yakni fase estrus (Almahdy 2012). Ada beberapa macam fase estrus selama siklus estrus tersebut sebagai berikut :

- a. Metestrus, pada fase ini dijumpai sedikit leukosit pada sediaan hapus vagina hewan uji seperti mencit dan tikus. Fase ini dijumpai satu atau dua sel leukosit pada sediaan hapus vagina hewan uji.
- b. Diestrus, pada fase ini dijumpai satu atau dua sel leukosit pada sediaan hapus vagina pada hewan uji.
- c. Prosterus, pada fase ini dijumpai sangat banyak leukosit pada sediaan hapus vagina hewan uji seperti mencit dan tikus, fase ini berlangsung lebih kurang satu hari.
- d. Estrus, pada fase ini tidak dijumpai adanya leukosit pada sediaan hapus vagina hewan uji seperti mencit dan tikus. Fase ini berlangsung lebih kurang satu hari. Pada fase ini hewan melangsungkan perkawinan (Almahdy 2012).

10. Masa Organogenesis

Menurut protokol, pemberian senyawa uji dapat dilakukan selama masa organogenesis. Masa organogenesis merupakan waktu berlangsungnya pembentukan organ yang berbeda tiap spesies mamalia. Pada tabel 1. dapat dilihat beberapa variasi masa organogenesis pada hewan (Almahdy 2012).

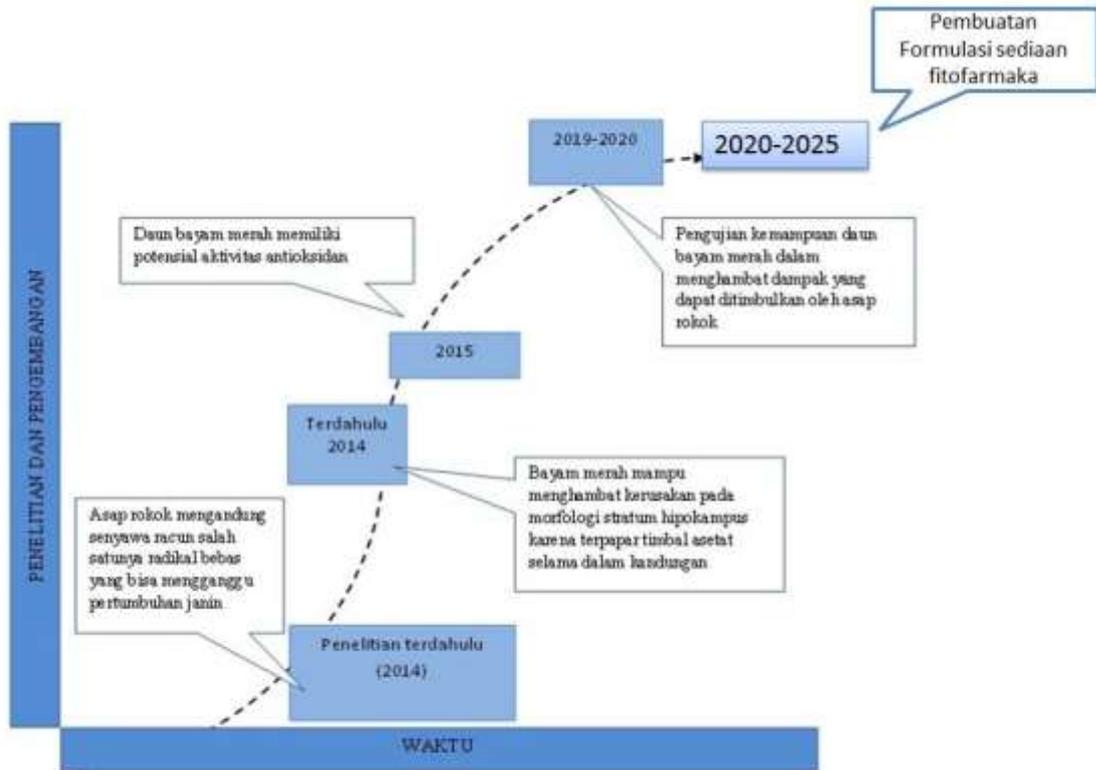
Tabel 1. Organogenesis pada Hewan Uji

Spesies	Periode Organogenesis (Hari)	Kelahiran
Tikus	6-15	22
Mencit	6-15	19
Hamster	8-12	15
Kelinci	6-18	33
Marmot	10-18	66
Kera	20-45	170
Manusia	21-56	267

B. Hipotesis

Ekstrak etanol 70% bayam merah dapat menghambat kecacatan pada mencit bunting yang dipapar asap rokok.

C. Road Map Penelitian



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA, Jakarta.

2. Waktu Penelitian

Waktu Penelitian dilakukan pada November 2019 – April 2020.

B. Metode Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah pisau cutter, timbangan neraca analitik, bekker glass, erlemayer, gelas ukur, batang pengaduk, hot plate, rotary evaporator, kertas saring, kandang mencit, smoking chamber, alumunium foil, sonde, masker, sarung tangan, tempat pakan, tempat minum, botol, timbangan hewan, wadah perendam fetus, alat bedah mencit.

2. Bahan Penelitian

a. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah daun segar bayam merah yang dipanen pada umur 2-3 minggu dengan ukuran panjang 9-10 cm dan lebar 7-8 cm yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriensis, LIPI Pusat Biologi, Bidang Botani, Cibinong, Bogor.

b. Bahan Kimia

Larutan Bouin's (formaldehid 14%, asam pikrat jenuh, asam asetat glasial), pereaksi Bouchardat, pereaksi Mayer, NaCl 0,9% eter, etil asetat anhidrat, HCl, NaOH, logam Mg, Na-CMC, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ pekat, aquadest, HCl 1N, Ketamin, Rokok Kretek Tanpa Filter .

c. Bahan lainnya

Makanan mencit standar dan aqua destilata

d. Bahan penginduksian

Rokok kretek 2 kali sehari 2 batang pada pagi jam 09.00 dan sore 15.00 WIB.

e. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina dan jantan galur DDY yang berumur 2-3 Bulan dengan berat badan rata-rata 20-30 g, berjumlah 25 ekor mencit betina dan 6 ekor mencit jantan yang diperoleh dari peternak mencit.

C. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan adalah tanaman bayam merah yang diperoleh dari BALITRO dan dideterminasi terlebih dahulu di Herbarium Bogoriensis, LIPI Pusat Biologi, Bidang Botani, Cibinong, Bogor.

2. Pengumpulan dan Penyediaan Bahan

Bayam merah yang masih segar diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor. Sampel dipanen pada pagi hari pukul 07.00 WIB bulan Juli 2018.

3. Pembuatan ekstrak etanol 70% Daun Bayam Merah

Daun bayam merah segar dikumpulkan, dibersihkan dari kotoran yang melekat kemudian dicuci dengan air, tiriskan dan keringkan dengan cara dikering anginkan terlindung dari sinar matahari langsung. Daun yang sudah kering diserbuk, kemudian serbuk daun bayam merah diayak dengan pengayak *mesh* no. 40, kemudian serbuk simplisia ditimbang (Depkes RI 2008).

Ekstrak dari daun bayam merah dengan cara maserasi menggunakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia, yaitu etanol 70%. Sebanyak 500 g serbuk daun bayam merah dimasukkan ke dalam botol bermulut (maserator), kemudian ditambahkan etanol 70% sampai terendam sempurna. Daun bayam merah direndam selama 24

jam, sambil sesekali diaduk setelah 6 jam pertama. Setelah itu, maserat dipisahkan dengan menggunakan kain. Proses penyarian diulangi sekurang-kurangnya dua kali lipat dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan, kemudian diuapkan dengan vakum *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C hingga diperoleh bobot konstan lalu ditimbang. (Depkes RI 2008).

4. Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Bayam Merah

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid pada daun bayam merah. Prosedur masing-masing pengujian adalah sebagai berikut :

a. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml HCl 2N dan 9 ml air, lalu panaskan pada penangas air suhu 100°C selama 2 menit, didinginkan, dan saring Filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Bourchardat, jika terbentuk endapan coklat sampai hitam, maka positif terdapat alkaloid (Depkes RI 2001).

b. Identifikasi Saponin

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan, kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Pada percobaan terbentuk buih yang mantap tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, lalu sebanyak 1 tetes HCl 2N ditambahkan ke dalam tabung reaksi, jika buih tidak hilang maka positif terdapat saponin (Depkes RI 2001).

c. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 2 ml etanol 95% ditambahkan 100 mg magnesium, dan 10 tetes HCl pekat. Pada percobaan terbentuk warna merah jingga sampai merah ungu, maka positif terdapat flavonoid (Depkes RI 2001).

d. Identifikasi Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan kloroform, dipanaskan pada penangas air suhu 100°C selama 2 menit, di dinginkan, dan saring, tambahkan pereaksi Lieberman Bouchardat terdiri dari 3 tetes asam asetat anhidrat, dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Pada percobaan terbentuk warna merah atau ungu menunjukkan adanya terpenoid dan warna hijau menunjukkan adanya steroid (Depkes RI 2001).

e. Identifikasi Tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml air, dipanaskan pada penangas air suhu 100°C selama 2 menit, didinginkan, ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Filtrat ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%, jika terbentuk warna hijau sampai biru atau hitam, maka positif terdapat tanin (Depkes RI 2001).

5. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Etanol 70% Daun Bayam Merah

a. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptik meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa terhadap simplisia dan ekstrak daun bayam merah (Depkes RI 2000).

b. Penetapan Susut Pengerinan

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C dalam oven selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol. Kemudian dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Botol dibiarkan dalam keadaan tertutup lalu didinginkan dalam eksikator hingga suhu kamar. Pengurangan berat merupakan banyaknya air di dalam bahan (Depkes RI 2000).

c. Perhitungan Randemen

Perhitungan randemen dilakukan dengan menghitung jumlah ekstrak kering yang didapat terhadap jumlah serbuk kering sebelum dilakukan ekstraksi kemudian di kalikan 100% (Depkes RI 2008).

Rumus :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{ekstrak kental (g)}}{\text{serbuk simplisia (g)}} \times 100\% \quad (\text{Depkes RI 2008})$$

6. Persiapan Hewan Uji

a. Aklimatisasi

Hewan uji diaklimatisasi di dalam kandang selama kurang lebih 10 hari dengan tujuan hewan uji bisa beradaptasi dengan lingkungan baru, pada saat tersebut dilakukan pengamatan masa estus yang dapat dilakukan dua kali pengamatan siklus estrus dan penimbangan bobot badan setiap hari (Almahdy 2012). Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok.

b. pengelompokan hewan uji

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan rancangan acak lengkap, dengan menggunakan 25 ekor mencit betina dan jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari 5 ekor mencit perkelompoknya :

Tabel 2. Tabel Perlakuan Hewan Uji

Kelompok	I	II	III	IV	V
Perlakuan	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Ekstrak Dosis I	Ekstrak Dosis II	Ekstrak Dosis III
Hari 1- 10	Aklimatisasi Hewan				
Hari 10- 13	Mengamati plug vagina pada mencit				
Hari 14- 31 (H 0-20) Kehamilan	Fase kehamilan mencit				
Hari 19- 28 (H- 6 s/d 15) Kehamilan	Na CMC	Asap Rokok	Asap Rokok Ekstrak Dosis I	Asap Rokok Ekstrak Dosis II	Asap Rokok Ekstrak Dosis III
Hari 30 (H-18)	Lapatromi pada hewan uji				

7. Penentuan fase esterus pada mencit

Fase esterus pada mencit dapat ditandai dengan pembengkakan disekitar vagina, selain itu vagina mencit terbuka dengan jelas dan lembab serta terdapat mucus yang berwarna kemerahan. Pada fase inilah mencit dapat dikawinkan karena hanya pada fase esterus mencit betina mau melakukan perkawinan.

8. Mengawinkan hewan uji

Pengawinan hewan dilakukan dengan memasukkan hewan jantan ke dalam kandang hewan betina yang sudah estrus (Almahdy 2012). Hewan dicampur dengan perbandingan 1 mencit jantan dengan 4 mencit betina.

9. Alokasi hewan bunting

Hewan uji yang terbukti bunting dipelihara dalam kandang individual dan dikelompokkan secara acak dengan penomoran agar mencit yang digunakan dapat mewakili populasi keseluruhan.

10. Penetapan dosis

Pada penelitian ini, lima kelompok terbagi menjadi kontrol normal, kontrol negatif, kelompok dosis I, kelompok dosis II dan kelompok dosis III. Dosis efektif dari aktifitas antioksidan daun bayam merah pada hepatoprotektor terhadap INH adalah 6,75 mg/ 20g BB (Wuri dkk. 2017).

Dosis yang dipergunakan dalam penelitian ini divariasikan menjadi :

- a. Dosis I : 6,75 mg/ 20g BB
- b. Dosis II : 13,5 mg/ 20g BB
- c. Dosis III : 27 mg/ 20g BB

11. Pembuatan sediaan suspensi

Pembuatan larutan Na CMC menggunakan kadar yang dianjurkan yaitu 0,5-1% (Rowe dkk. 2009). Timbang 250 mg Na CMC kemudian taburkan di atas air panas 50 ml, setelah 15 menit aduk kuat-kuat dalam lumpang sampai terbentuk massa suspensi yang homogen, hingga didapatkan konsentrasi suspensi Na CMC 0,5%.

12. Proses pemaparan asap rokok

Hewan coba ditempatkan didalam kandang khusus berbentuk kotak (*Smoke chamber*) memiliki lubang-lubang, terdapat 1 lubang diatas smoke chamber dimana lubang itu dimaksudkan untuk memasukan asap rokok rokok yang dihembuskan dengan bantuan spuit 50 cc. Asap rokok dihisap hingga rokok habis dan terhirup oleh mencit.

Asap rokok yang didapat berasal dari satu batang rokok kretek yang dipaparkan setiap 2 kali sehari 2 rokok pada pagi hari dan sore hari, dengan cara rokok dinyalakan, kemudian dihisap menggunakan spuit 50 cc lalu dihembuskan kedalam *smoke chamber*

13. Pembuatan larutan uji

Pembagian kelompok terdiri dari kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, kelompok dosis I (6,75 mg/ 20 mgBB), kelompok dosis II (13,5 mg/ 20 mgBB), dan dosis III (27 mg/ 20mgBB). Dosis tersebut diambil dari penelitian sebelumnya (Wuri dkk. 2017).

$$\text{Volume pemberian} = \frac{\text{dosis mg/kgbbx BB (kg)}}{\text{Konsentrasi (mg/mL)}}$$

a. Kelompok kontrol normal

Pada kelompok kontrol normal mencit diberikan *carboxymethylcellulose sodium* (Na CMC) dengan konsentrasi 0,5% dengan perhitungan :

$$0,5\% \text{ Na CMC} = \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 50 \text{ mL} = 0,25 \text{ gram}$$

Aqua dest ad 50 mL

b. Kelompok perlakuan dosis I

Ekstrak etanol 70% daun bayam merah 6,75 mg/20 gBB mencit, volume pemberian 0,3 mL. Untuk membuat sediaan yang mengandung ekstrak etanol daun bayam merah 6,75 mg/20 gBB, konsentrasi yang digunakan :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{337,5 \text{ mg/kg} \times 0,020 \text{ kg}}{0,3 \text{ mL}} = 22.5 \text{ mg/mL}$$

Untuk membuat 50 mL sediaan ekstrak daun bayam merah dengan konsentrasi 22,5 mg/mL dibutuhkan 1125 mg ekstrak daun bayam merah. Sehingga :

Berat ekstrak yang ditimbang 1125 mg

Na CMC 0,5% ad 50 mL

c. Kelompok perlakuan dosis II

Ekstrak etanol daun bayam merah 13,5 mg/20 gBB mencit, volume pemberian 0,3 mL. Untuk membuat sediaan yang mengandung ekstrak etanol daun bayam merah 13,5 mg/20 gBB, konsentrasi yang digunakan :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{675 \text{ mg/kg} \times 0,020 \text{ kg}}{0,3 \text{ mL}} = 45 \text{ mg/mL}$$

Untuk membuat 50 mL sediaan ekstrak daun bayam merah dengan konsentrasi 45 mg/mL dibutuhkan 2250 mg ekstrak daun bayam merah. Sehingga :

Berat ekstrak yang ditimbang 2250 mg

Na CMC 0,5% ad 50 mL

d. Kelompok perlakuan dosis III

Ekstrak etanol daun bayam merah 27 mg/20 gBB mencit, volume pemberian 0,3 mL. Untuk membuat sediaan yang mengandung ekstrak etanol daun bayam merah 27 mg/20 gBB, konsentrasi yang digunakan :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{1350 \text{ mg/kg} \times 0,020 \text{ kg}}{0,3 \text{ mL}} = 90 \text{ mg/mL}$$

Untuk membuat 50 mL sediaan ekstrak daun bayam merah dengan konsentrasi 90 mg/mL dibutuhkan 4500 mg ekstrak daun bayam merah. Sehingga :

Berat ekstrak yang ditimbang 4500 mg

Na CMC 0,5% ad 50 mL

14. Pemberian zat uji secara oral pada mencit bunting

Senyawa uji yang digunakan diberikan pada mencit bunting pada masa organogenesisnya. Masa organogenesis tersebut terjadi pada hari ke-6 sampai hari

ke-15 kehamilan. Senyawa diberikan secara oral setiap hari ke-6 sampai hari ke-15. Sebelum diberikan zat uji, dilakukan penimbangan rutin untuk mengetahui volume pemberian mengingat kondisi mencit bunting yang berat badanya terus berubah (Almahdy 2012).

15. Laparatomi

Laparotomi adalah teknik mengeluarkan fetus mencit dengan melakukan penyayatan pada daerah abdomen mencit bunting. Pada penelitian teratologi, mutlak melakukan laparatomi dari pada menunggu mencit melahirkan secara spontan. Kelahiran spontan dapat mengurangi jumlah data, karena adanya sifat kanibalisme rodensia. Biasanya mencit atau tikus akan memakan anaknya yang baru lahir jika anak tersebut cacat atau jumlahnya lebih dari jumlah mammae yang dimiliki induknya. Mencit dan tikus memiliki 10 mammae (Almahdy 2012).

Laparotomi dilakukan pada hari ke-18 kehamilan, sebelum dilaparotomi induk mencit dianestesi dengan menggunakan injeksi ketamin dengan dosis pada manusia 6,5 mg/kgBB – 13 mg/kgBB secara intramuscula, kemudian dibedah untuk diambil fetusnya. Perhitungan dosis ketamin dapat dilihat pada lampiran 11. Hasil laparatomi diperoleh data kuantitatif sebagai berikut :

- a. Jumlah fetus
- b. Jumlah fetus yang hidup
- c. Jumlah fetus yang mati
- d. Berat fetus
- e. Jumlah resorpsi fetus
- f. Tromboemboli
- g. Kelainan langit-langit

16. Fiksasi

Setelah diamati secara kasat mata, kemudian difiksasi dengan larutan bouin Asam asetat glasial 5 mL ditambah dengan formalin 40% 25 mL dan asam pikrat 75 mL agar fetus berwarna kuning dan mudah disayat (Almahdy 2012).

D. Analisis Data

Data bobot rata-rata fetus dan jumlah fetus yang diambil dari berbagai kelompok dilakukan analisa statistik dengan menggunakan metode analisa varian satu arah (*one way ANOVA*). Bila terdapat perbedaan yang bermakna antara beberapa kelompok maka dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD*.

E. Parameter yang Diamati

Bobot rata-rata fetus, kecacatan pada fetus, jumlah fetus, jumlah fetus mati, jumlah tapak resorpsi dan ada tidaknya kecacatan pada fetus secara morfologi yang berupa kelainan (Almahdy 2012).

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Identifikasi Tumbuhan

Determinasi dilakukan oleh Herbarium Bogoriense, bidang botani Pusat Penelitian Biologi – LIPI Bogor. Hasil menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil Ekstraksi Daun Bayam Merah

Sebanyak 5 kg daun bayam merah segar dicuci dan dikeringkan hingga diperoleh 800 g daun bayam merah kering. Kemudian daun bayam merah kering ini diserbuk sehingga diperoleh 650 g serbuk kering. Serbuk kering diayak dengan ayakan mesh 40 lalu didapat hasil serbuk sebanyak 550 g. Pada penelitian ini, hanya menggunakan 500 g serbuk kering. Serbuk kering ini dimaserasi dengan pelarut etanol 70%, selanjutnya maserat dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator*. Hasil ekstraksi daun bayam merah dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Daun Bayam Merah

No	Jenis	Hasil
1	Daun bayam merah segar	5 kg
2	Daun bayam merah kering	800 g
3	Serbuk daun bayam merah	500 g
4	Ekstrak kental etanol 70%	107,20 g

3. Karakteristik Mutu Ekstrak

Untuk mengetahui karakteristik serbuk dan ekstrak etanol 70% daun bayam merah maka dilakukan uji organoleptik, susut pengeringan dan randemen ekstrak etanol 70% ekstrak daun bayam merah.

Tabel 4. Karakteristik Bayam Merah

No	Jenis	Uji Organoleptik			
		Bentuk	Bau	Rasa	Warna
1	Serbuk	Serbuk kasar	Khas	Khas	Hijau tua kemerahan
2	Ekstrak	Kental	Khas	Khas	Coklat kehitaman

Tabel 5. Hasil Susut Pengeringan dan Randemen Ekstrak

No	Jenis	Hasil
1	Randemen Ekstrak Kental	21, 44%
2	Susut pengeringan	6, 1344%

4. Hasil Uji Penapisan Fitokimia

Uji identifikasi dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak etanol 70% daun bayam merah yang meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan tanin. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Bayam Merah

No	Uji penapisan	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Saponin	+
4	Tanin	+
5	Steroid/Terpenoid	+

Keterangan :

(+) : Positif mengandung senyawa

5. Hasil Uji Ekstrak Etanol 70% Daun Bayam Merah Terhadap Fetus Mencit

Hasil dari penelitian perkembangan fetus mencit dengan pemberian ekstrak etanol 70% daun bayam merah dilakukan pada hari ke 6 sampai hari ke

15 kebuntingan. Hasil pengamatan berupa fetus menciit yang dilihat secara morfologi kemudian difiksasi menggunakan larutan bouin selama 14 hari.

Hasil pengamatan terhadap morfologi fetus meliputi kelengkapan dan kelainan pada kepala, daun telinga, kelopak mata, jari kaki, ekor, dan tromboemboli. Pemberian ekstrak etanol 70% daun bayam merah menunjukkan tidak adanya kecacatan baik pada kelompok normal, maupun kelompok dosis.

6. Hasil Pengamatan Pada Fetus Menciit

Tabel 7. Parameter kecacatan fetus

Kelompok perlakuan	Jumlah total fetus	Parameter kecacatan				Kleft Palatte
		Fetus mati	Resorpsi	Kelainan fisik	Trombo emboli	
Kontrol negatif	43	8	5	3	-	Normal
Dosis I	42	-	-	-	-	Normal
Dosis II	42	-	-	-	-	Normal
Dosis III	38	-	-	-	-	Normal
Kontrol Normal	45	-	-	-	-	Normal

Hasil pengamatan pada jumlah fetus, didapatkan hasil jumlah fetus menciit pada kontrol normal lebih banyak dari pada kontrol negatif maupun kelompok dosis. Pada kontrol negatif ditemukan fetus mati berjumlah 8 ekor, dimana 5 fetus tidak berkembang atau resorpsi dan 3 fetus mengalami kelainan.

Tabel 8. Data Berat Rata-rata Fetus

Kelompok Perlakuan	Induk Mencit	Berat Rata-Rata Fetus (gram)
Kontrol Normal	1	0,993
	2	1,388
	3	1,369
	4	1,500
	5	1,351
Rata-rata		1,320
SD		0,191
Kontrol Negatif	1	0,081
	2	0,495
	3	0,184
	4	0,600
	5	0,608
Rata-rata		0,394
SD		0,245
Dosis I 6,75 mg/20 gBB	1	0,787
	2	1,138
	3	0,704
	4	0,879
	5	0,748
Rata-rata		0,851
SD		0,172
Dosis II 13,5 mg/20 gBB	1	0,886
	2	1,279
	3	1,073
	4	1,118
	5	0,898
Rata-rata		1,051
SD		0,164
Dosis III 27 mg/20 gBB	1	0,958
	2	1,402
	3	1,262
	4	1,276
	5	1,043
Rata-rata		1,188
SD		0,182

Hasil perhitungan one way ANOVA pada berat badan fetus menunjukkan pengaruh perlakuan terhadap berat badan fetus. Nilai signifikansi yang didapat sebesar 0,000. Untuk melihat dimana letak perbedaanya dilanjutkan dengan uji

tukey. Pada uji Tukey didapatkan hasil adanya perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dan kontrol normal.

B. Pembahasan

Pemberian ekstrak etanol 70% daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap mencit putih bunting yang diinduksi asap rokok bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun bayam merah dapat menghambat efek buruk akibat paparan asap rokok terhadap fetus mencit. Langkah awal dari penelitian ini adalah determinasi. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan. Berdasarkan hasil determinasi, tanaman yang digunakan adalah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor*.L) dari suku *Amaranthaceae*. Pada penelitian ini digunakan daun bayam merah segar yang telah dicuci bersih, kemudian dikeringkan dengan cara dikering anginkan terlindung dari sinar matahari langsung. Setelah kering, simplisia dibuat serbuk dengan cara di blender. Serbuk simplisia diayak menggunakan ayakan mesh 40.

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Metode ini digunakan untuk menghindari rusaknya senyawa- senyawa yang terdapat didalam simplisia akibat adanya proses pemanasan. Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena etanol adalah pelarut yang dapat melarutkan senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam simplisia. Selain itu etanol juga tidak beracun, absorbsinya baik, dan dapat mencegah reaksi enzimatik sehingga menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dapat merusak kandungan simplisia. Hasil maserasi dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C.

Hewan coba yang digunakan adalah mencit putih betina. Sebelum perlakuan, hewan diaklimatisasi dengan tujuan agar hewan dapat beradaptasi dengan lingkungan dan dapat dilakukan pengamatan terhadap siklus estrusnya. Khususnya untuk percobaan teratogenik, aklimatisasi dilakukan selama 10 hari. Durasi ini dilakukan dengan mempertimbangkan bahwa, selama aklimatisasi dapat dilakukan dua kali pengamatan siklus estrus (Almahdy 2012).

Pada saat memasuki masa estrus ditandai dengan vagina terbuka, lembab dan terjadi pembengkakan di daerah vagina. Hewan percobaan dikawinkan pada sore hari dengan perbandingan 1 ekor mencit jantan : 4 ekor mencit betina. Untuk mengetahui mencit tersebut kawin atau tidak maka dapat dilihat pada plug vagina pada mencit betina. Plug vagina ini terlihat pada pagi hari. Jika plug vagina sudah terlihat maka dapat di tetapkan sebagai hari ke-0 kehamilan. Penelitian ini menggunakan mencit sebanyak 25 ekor betina yang masing- masing dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah 5 ekor tiap kelompoknya. Kelompok pertama sebagai kontrol normal hanya diberikan pakan standar dan Na CMC, kontrol negatif dipaparkan asap rokok dan kelompok dosis ekstrak etanol 70% daun bayam merah dosis 6,75 mg/20 gBB, dosis 13,5 mg/20 gBB, dan dosis 27 mg/20 gBB.

Pada kontrol negatif hanya dipapar asap rokok saja, pemaparan rokok dilakukan dua kali sehari dengan 2 batang rokok untuk sekali pemaparan mengakibatkan terjadinya perbedaan berat badan fetus dimana berat badan pada kontrol negatif sangat rendah dibandingkan kontrol normal dan juga pada kelompok dosis. Pada penelitian Hanum (2016) didapatkan hasil bahwa asap rokok dapat menyebabkan hipoksia pada janin dan menurunkan aliran darah umbilikal yang menyebabkan gangguan pertumbuhan pada janin sehingga menyebabkan berat badan lahir rendah. Pada kontrol negatif juga terdapat kematian fetus. Kematian fetus kemungkinan disebabkan karena terjadinya stress oksidatif yang dapat menimbulkan masalah kebuntingan seperti disfungsi dan apoptosis plasenta, plasenta yang mengalami apoptosis menurunkan sekresi progesteron yang diperlukan untuk pemeliharaan kebuntingan (Despande dkk. 2000).

Pada kontrol negatif juga ditemukan 5 fetus yang resorpsi, hal ini disebabkan karena pada masa organogenesis tidak terdapat lagi sifat totipotensi sel, sehingga sel tidak dapat memperbaiki kerusakan dan tidak terjadi perkembangan selanjutnya. Akibatnya fetus mencit mati dan hanya terbentuk gumpalan merah (Marusin 2011). Adanya resorpsi juga disebabkan karena nikotin

yang terkandung dalam asap rokok dapat menembus plasenta (Jauniaux dkk. 1999).

Pada kelompok dosis I, dosis II dan dosis III setelah dipapar dengan asap rokok, selang 30 menit masing-masing kelompok dosis diberikan ekstrak bayam merah dengan dosis yang berbeda. Didapatkan hasil bahwa pada dosis I terjadi penurunan berat badan dan ukuran fetus dibandingkan dengan kontrol normal, sedangkan dosis II dan dosis III tidak terdapat penurunan berat badan yang bermakna dibanding kontrol normal. Penurunan berat badan pada kelompok dosis I terjadi karena ekstrak etanol 70% daun bayam merah pada dosis I terlalu kecil sehingga belum efektif menghambat dampak buruk yang diakibatkan oleh asap rokok. Pada ekstrak etanol 70% daun bayam merah yang berperan sebagai antioksidan salah satunya adalah flavonoid, flavonoid berperan sebagai antioksidan lipofilik dan hidrofilik. Mekanisme flavonoid dalam menghambat radikal bebas adalah dengan menangkap ROS yang dihasilkan oleh asap rokok secara langsung, mencegah regenerasi ROS dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seluler (Akhlaghi dan Bandy 2009).

Parameter kecacatan yang diamati adalah penurunan berat badan, karena dapat mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan dan perkembangan fetus. Parameter kecacatan lain yang diamati yaitu jumlah fetus dan *cleft palate* pada fetus. Parameter lain yang ditemukan yaitu terdapatnya reabsorpsi dan kematian pada kontrol negatif. Dari parameter di atas dihasilkan data rata-rata berat badan. Data rata-rata berat badan fetus dianalisa menggunakan ANOVA satu arah diperoleh ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok uji. Berat badan fetus pada kelompok kontrol negatif lebih kecil dibandingkan kontrol positif, dosis I, dosis II, dan dosis III. Pada dosis I berbeda bermakna dengan dosis normal, tetapi tidak berbeda bermakna dengan dosis II dan dosis III. Dosis I dapat menghambat kecacatan namun tidak seefektif dosis II dan dosis III, dimana dosis II dan dosis III sebanding dengan kontrol normal.

BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, kelompok uji ekstrak etanol 70% daun bayam merah mampu menghambat kecacatan yang dihasilkan asap rokok. Hasil analisis uji Tukey menunjukkan bahwa dosis II 13,5 mg/20 gBB dan dosis III 27 mg/20 gBB memiliki kemampuan yang sama dengan kontrol normal, yaitu tidak terdapat perbedaan bermakna, sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis II adalah dosis yang efektif dalam menghambat kecacatan akibat paparan asap rokok.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh keakuratan hasil yang lebih baik, dengan dilakukannya pengamatan rangka fetus mencit.

BAB 6. LUARAN YANG DICAPAI

A. Luaran Wajib

IDENTITAS JURNAL

1	Nama Jurnal	Jurnal Farmasi Indonesia (Ikatan Apoteker Indonesia)
2	Website Jurnal	http://jfionline.org/index.php/jurnal
3	Status Makalah	<i>Awaiting Assignment</i>
4	Jenis Jurnal	Jurnal Nasional terakreditasi Sinta 2
4	Tanggal Submit	18 Februari 2020
5	Bukti Screenshot submit	

B. Luaran Tambahan

IDENTITAS SEMINAR

1	Nama Jurnal	Prosiding Seminar Internasional
2	Website Jurnal	https://icpu.umy.ac.id
3	Status Makalah	Submit
4	Jenis Prosiding	ISBN-Indexed Proceeding
5	Tanggal Submit	
6	Bukti Screenshot submit	

BAB 7. RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

Hasil Penelitian	Penelitian yang sudah dilakukan merupakan pengembangan keilmuan yang tentunya diperoleh dari data-data empiris sebelumnya dan jurnal-jurnal penelitian yang sudah dilakukan, berdasarkan beberapa pustaka yang diperoleh bahwa daun bayam merah banyak sekali manfaatnya untuk berbagai macam penyakit. pada penelitian ini, peneliti mengembangkan riset ke arah keamanan bayam merah jika dilihat pada kondisi hewan bunting yang terpapar polusi, dari hasil riset dapat dibuktikan bahwa bayam merah efektif dalam menghambat kecacatan akibat paparan asap rokok.
Rencana Tindak Lanjut	Diperlukan pengujian parameter yang lainnya seperti pengamatan rangka fetus mencit untuk memperoleh keakuratan hasil yang lebih baik dan juga kelengkapan data keamanan sehingga kedepannya bisa dilanjutkan dalam pembuatan sediaan obat.

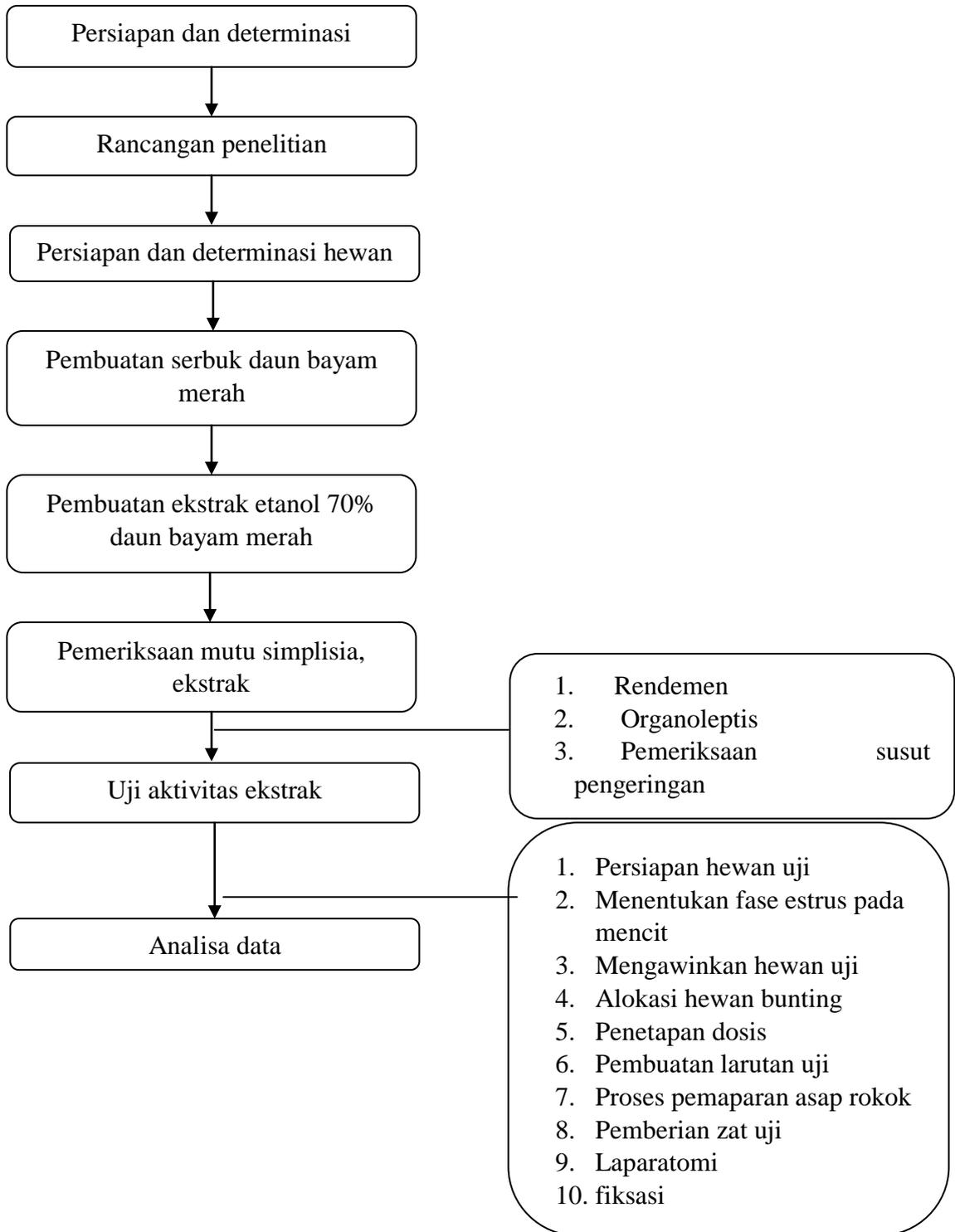
DAFTAR PUSTAKA

- Ahadina RZ. 2014. Hubungan Lingkungan Perokok dengan Ibu Hamil Terpapar Asap Rokok Terhadap Kejadian Bayi Berat Lahir Rendah di Surakarta. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Aina N. 2005. Pengaruh Paparan Asap Rokok Terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Galur Swiss [skripsi]. UNS.1(2), 60-1.
- Akhlaghi M, Bandy B. 2009. Mechanisms of Flavonoid Protection Against Myocardial Ischemia Reperfusion injury. *Journal Molecular and Cellular Cardiology*. **46**: 309-317.
- Aliansi Pengendalian Tembakau Indonesia (APTI). 2013. Peta Jalan Pengendalian Produk Tembakau Indonesia. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Muhammadiyah University Press. Surakarta. 12-23.
- Almahdy A. 2012. *Teratologi Eksperimental*. Andalas University Press. Padang. Hlm. 1, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 14, 18, 35.
- Andriyani Y, Sagita D, Pritania MJ, Sergeonery L, Almahdy A. 2015. Efek Paparan Asap Rokok Pada Model Mencit Selama Fase Organogenesis dan Pertumbuhan. Universitas Andalas. Hlm 375.
- Badan POM RI. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta: Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014. Hlm 45-50.
- Celica AR, Mas'ud H, Sunaryo HW. 2016. Pengaruh Pemberian Beta Karoten terhadap Persentase Jumlah Fetus Mencit (*Mus musculus*) Hidup yang diberi Paparan Asap Rokok Kretek. 2016. *Airlangga*. **9**(3): 16.
- Chunmei LJ, Yon M, Jung AY, Lee JG, Jung KY, Lee BJ, Yun YW, Nam SY. 2013. *Antiteratogenic Effects of β -Carotene in Cultured Mouse Embryos Exposed to Nicotine*. Collage of Veterinary Medicine and Research Institute Chungbuk National University. Republik of Korea. 361- 763.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departmen Kesehatan RI. 2001. *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. 3, 5-7, 11-17, 39-46.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departmen Kesehatan Republik Indonesia.

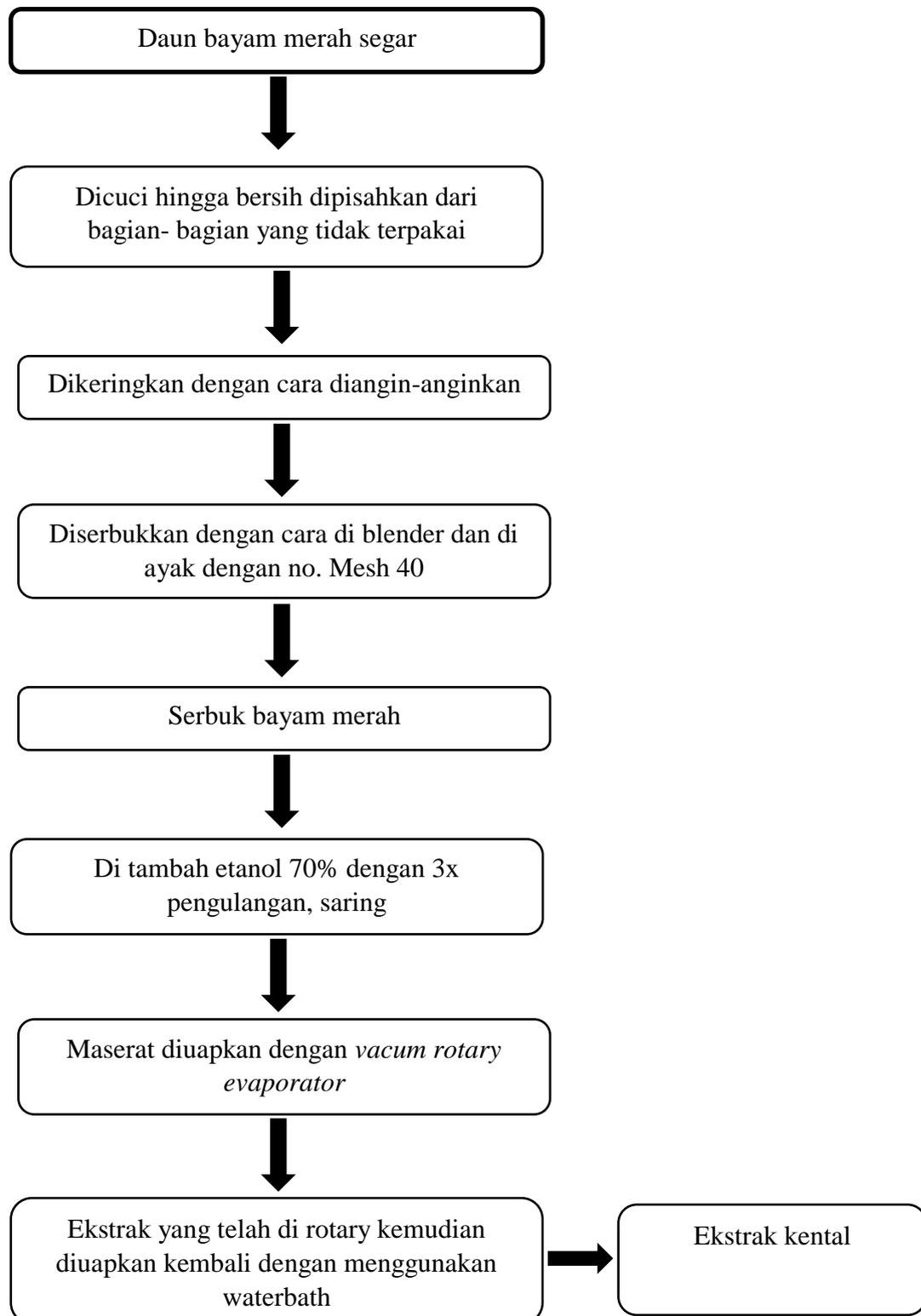
- Despande SS, Angkeow P, Huang J, Ozaki M, Irani K. 2000. *Rac1 Inhibits TNF- α -Induced Endothelial Cell Apoptosis: Dual Regulation by Reactive Oxygen Species*. The FASEB. 14: 1705-1714.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals, Other Reactive Species and Diseases*. In free Radicals in Biologi Medicine. New York: Oxford University.
- Hanani E. 2016. *Analisis Fitokimia*. Penerbit EGC, Jakarta.
- Hanum H, Wibowo A. 2016. Pengaruh Paparan Asap Rokok Lingkungan Pada Ibu Hamil Terhadap Kejadian Berat Bayi Lahir Rendah. *Jurnal Majority*. 5(5): 22-26.
- Hayfaa AW, Rasmieh AA, Amel AF, Ahmed M, Ghadeer A, Samia AE. 2013. *Effects of Secondhand Smoke on the Birth Weight of Term Infants and the Demographic Profile of Saudi Exposed Women*. BMC Public Health. 13(341) : 1471- 2458.
- Ikhlas, N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum Americanum* Linn) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi Universitas Syarif Hidayatullah, Jakarta. Hlm.13-17.
- Iswari, K. 2011 . *Kulit Manggis Bekhasiat Tinggi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Jauniaux E, Gulbis B, Acharya G. 1999. *Maternal Tobacco Exposure and Cotinine Levels in Fetal Fluids in the First Half of Pregnancy*. Obstet Gynecol. 93(1): 25-29.
- Kalanjati VP, Pratiwi MP, Syakdiyah NH, Widiasi ED, Anggraeni MR, Pratiwi IA, Argarini R. 2014. Pengaruh Ekstrak Bayam Merah (*Amaranthus gangeticus*) terhadap Morfologi Stratum Hipokampus Model Anak Mencit Pascasapih Induk yang Terpapar Timbal Selama Masa Kehamilan *MKB*. 46(3): 125-129.
- Karim D. Pengaruh Paparan Asap Rokok Elektrik Terhadap Motilitas Jumlah Sperma dan Kadar MDA Testis Mencit (*Mus musculus* L.) [tesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara. 1:60-1
- Marusin N, Almahdy A, Fitri H. 2011. Uji Aktivitas Vitamin A Terhadap Efek Teratogen Warfarin pada Fetus Mencit Putih. *J. Science dan Teknologi Farmasi*. Medan. 617-629.
- Prabaningtyas O. 2010. Hubungan Derajat Merokok Dengan Kejadian PPOK. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories : Analithycal Progres, **19**(2): 1-4.
- Prasetya DL. 2011. Pengaruh Negatif Rokok bagi Kesehatan di Kalangan Remaja. Universitas Negeri Malang, Malang.
- Radji M, Harmita 2005. *Analisis Hayati*. Edisi 2. Universitas Indonesia Press. Depok.
- Rajalaksmi K, Haribabu T, Sudha P.2011. *Toxicokinetic studies of antioksidant of Amaranthus tricolor and Marigold (Calendula Oficenalis L.) Plants Exposed to Heavy Metal Lead*. IJPAES. **1**(2): 105-109.
- Rukmana R. 1994. *Bayam Bertanam dan Pengolahan Pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta. Hlm 14.
- Rowe RC. 2009. *Handbook of pharmaceutical exipients*.Edisi VI. London. Hlm.119.
- Setiawan, D. 2003. *Atlas Tumbuhan Indonesia*. Jilid 2. Trubus Agriwidya. Jakarta. Hal. 7-9.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional* . Yogyakarta: Kanisius.
- Singh, R.P., Kapur S. 2004. *Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Relevance of Dietary Antioxydants*. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*; **5**(3): 218-25.
- Sukmaningsih A. 2009. Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatid Tubulus Seminiferus Testis Mencit (*Mus musculus*) yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Biologi*. 12:31-2.
- Syaifuddin. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera amoena* voss.) Segar dan Rebus Dengan Metode DPPH (*1,1 -diphenyl-2-piclylhydrazyl*). *Skripsi*. Semarang. Universitas Islam Negeri Walisongo.
- Winarsi SM, Aris P, Elly NS. 2007 . *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius. Yogyakarta. Hlm 281.
- Wuri MS, Prasetyo A, Sakinah EN. 2017. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar ALP Serum Mencit yang Diinduksi Isoniazid. *Fakultas Kedokteran Universitas Jember*. **5**(3).
- Xiao D, Huang S, Yang L, Zhang. 2007. *Direct Effect of Nicotin on Contractility of the Uterine Artery in Pregnance*. *J of Pharmacol and Exsperient Therapeutics*. 322 : 180- 185
- Yoshihiro M, Keiko T, Masahi A. 2013. *Active and Passive Maternal Smoking During Pregnancy and Birth Outcomes*. *BMC Pregnancy Childbirth*. **13**(157): 1471- 2393.

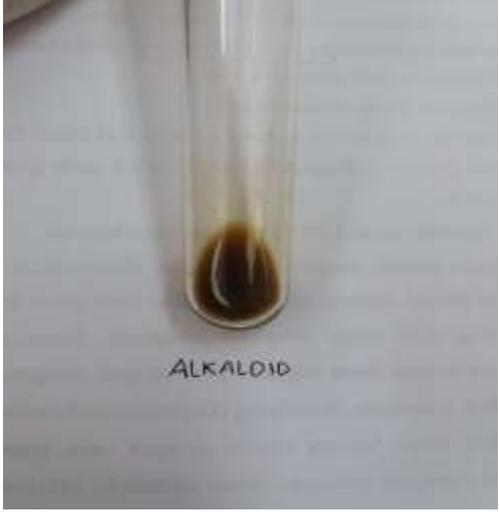
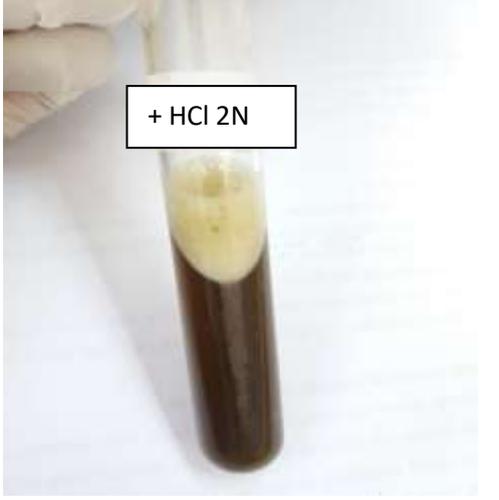
Lampiran 1. Skema Prosedur Kerja

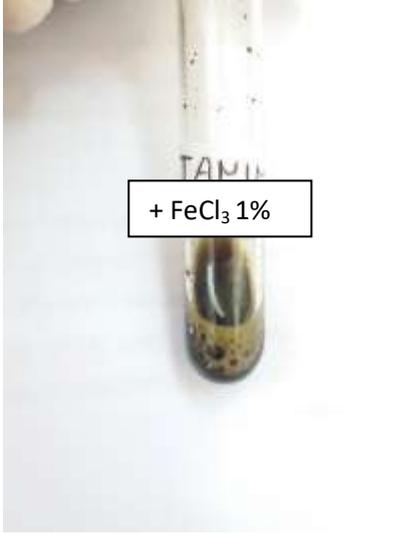


Lampiran 2. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Bayam Merah



Lampiran 3. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Bayam Merah

Senyawa	Hasil	Keterangan
Alkaloid		<p>(+) Coklat Kehitaman</p>
Flavonoid		<p>(+) Orange</p>
Saponin		<p>(+) Buih</p>

Senyawa	Hasil	Keterangan
Tanin		<p data-bbox="1102 495 1190 584">(+) Hitam</p>
Steroid		<p data-bbox="1102 1050 1190 1140">(+) Hijau</p>

Lampiran 4. Perhitungan Karakteristik Mutu Ekstrak Bayam Merah

1. Rendemen Ekstrak Bayam Merah

$$\begin{aligned}\text{Simplisia serbuk} &= 500 \text{ g} \\ \text{Ekstrak kental} &= 107,20 \text{ g} \\ \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk kering}} \times 100\% \\ &= \frac{107,20 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 21,44 \%\end{aligned}$$

2 . Perhitungan susut pengeringan ekstrak bayam merah

$$\begin{aligned}\text{Berat botol timbang (W}_0\text{)} &: 38,6604 \text{ gram} \\ \text{Berat botol timbang + ekstrak (W}_1\text{)} &: 40,6606 \text{ gram} \\ \text{Berat botol timbang + ekstrak konstan (W}_2\text{)} &: 40,5379 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Susut Pengeringan} &= \frac{w_1 - w_2}{w_1 - w_0} \times 100\% \\ &= \frac{40,6606 \text{ g} - 40,5379 \text{ g}}{40,6606 \text{ g} - 38,6604 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,1344 \%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Volume Larutan Uji

A. Pembuatan Larutan Na- Cmc

Konsentrasi 0,5 % = $0,5 / 100 \text{ mL} \times 10 \text{ mL}$

$$= 0,05 \text{ gr}$$

Aq dest ad 10 mL

B. Perhitungan Dosis Ekstrak

Dosis I = $1 \times 6,75 \text{ mg}/20 \text{ gBB} = 6,75 \text{ mg}/20 \text{ gBB}$

Dosis II = $2 \times 6,75 \text{ mg}/20 \text{ gBB} = 13,5 \text{ mg}/20 \text{ gBB}$

Dosis III = $2 \times 13,5 \text{ mg}/20 \text{ gBB} = 27 \text{ mg}/20 \text{ gBB}$

Volume pemberian ekstrak etanol 70% daun bayam merah dosis 1, 2, dan 3

Konsentrasi :

$$\text{Dosis 1} = \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{VAO}} = \frac{337,5 \text{ mg/kg} \times 0,020 \text{ kg}}{0,3 \text{ mL}} = 22,5 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Dosis 2} = \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{VAO}} = \frac{675 \text{ mg/kg} \times 0,020 \text{ kg}}{0,3 \text{ mL}} = 45 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Dosis 3} = \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{VAO}} = \frac{1350 \text{ mg/kg} \times 0,020 \text{ kg}}{0,3 \text{ mL}} = 90 \text{ mg/mL}$$

Ekstrak yang ditimbang

Volume yang dibuat per hari = 10 mL

Dosis 1 = konsentrasi x volume per hari = $22,5 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL} = 225 \text{ mg}$

Dosis 2 = konsentrasi x volume per hari = $45 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL} = 450 \text{ mg}$

Dosis 3 = konsentrasi x volume per hari = $90 \text{ mg/mL} \times 10 \text{ mL} = 900 \text{ mg}$

Ekstrak bayam merah sesuai dengan dosis 1, 2, dan 3 dilarutkan dengan Na-CMC sampai volume 10 ml. Larutan suspensi ekstrak dosis 1, 2, dan 3 dibuat setiap hari untuk menjamin larutan dalam keadaan baik.

C. Perhitungan Dosis Ketamin

Dosis Ketamin pada Manusia = 6,5 ml/kgBB – 13 ml/kgBB

$$\begin{aligned}\text{Dosis Mencit} &= \text{Dosis manusia} \times \frac{\text{Faktor Km Manusia}}{\text{Faktor Km Mencit}} \\ &= 10 \text{ mg/kgBB} \times \frac{37}{3} \\ &= 123,34 \text{ mg/kgBB}\end{aligned}$$

Diketahui konsentrasi ketamin adalah 50 mg/ml.

Misal, BB mencit 0,04 kg

$$\begin{aligned}\text{Volume Pemberian} &= \frac{123,34 \text{ mg/kgBB} \times 0,04 \text{ kg}}{50 \text{ mg/mL}} \\ &= 0,0986 \text{ mL/kgBB}\end{aligned}$$

Lampiran 6. Berat Badan Fetus

Tabel 10. Kelompok Kontrol Normal

Fetus ke-	Induk Mencit Ke-				
	1	2	3	4	5
1	1,035	1,45	1,357	1,573	1,332
2	0,069	1,37	1,351	1,564	1,342
3	1,198	1,329	1,427	1,443	1,362
4	1,194	1,372	1,364	1,443	1,35
5	1,178	1,381	1,475	1,538	1,368
6	1,189	1,421	1,484	1,446	1,375
7	1,085	1,409	1,431	1,462	1,325
8	1,035	1,369	1,382	1,527	1,383
9	0,069		1,02		1,345
10	1,198		1,397		
Rata-rata	0,993	1,388	1,369	1,500	1,351

Tabel 11. Kelompok Kontrol Negatif

Fetus ke-	Induk Mencit Ke-				
	1	2	3	4	5
1	0,085	0,512	0,301	0,863	0,572
2	0,086	0,507	0,269	0,792	0,566
3	0,087	0,498	0,249	0,687	0,549
4	0,092	0,479	0,248	0,86	0,96
5	0,089	0,457	0,277	0,81	0,99
6	0,073	0,486	0,219	0,748	0,32
7	0,065	0,521	0,02	0,014	0,298
8	0,083	0,469	0,03	0,022	
9	0,087	0,523	0,04		
10	0,059				
Rata-rata	0,081	0,495	0,184	0,600	0,608

Lampiran 6. (Lanjutan)

Tabel 12. Kelompok Dosis I (6,75 mg/20 gBB) Ekstrak Bayam Merah

Fetus ke-	Induk Mencit Ke-				
	1	2	3	4	5
1	0,801	1,179	0,676	0,796	0,725
2	0,769	1,19	0,694	0,882	0,731
3	0,798	1,159	0,721	0,883	0,753
4	0,812	1,188	0,68	0,931	0,762
5	0,759	1,079	0,713	0,912	0,735
6	0,802	1,077	0,719	0,927	0,777
7	0,799	1,129	0,73	0,851	0,755
8	0,787	1,092	0,696	0,847	0,82
9	0,752	1,148			
Rata-rata	0,787	1,138	0,704	0,879	0,748

Tabel 13. Kelompok Dosis II (13,5 mg/20 gBB) Ekstrak Bayam Merah

Fetus ke-	Induk Mencit Ke-				
	1	2	3	4	5
1	0,832	1,209	1,16	1,02	0,896
2	0,837	1,351	0,958	1,07	0,899
3	0,932	1,333	1,17	0,99	0,905
4	0,901	1,259	0,989	1,149	0,913
5	0,862	1,37	1,13	1,158	0,876
6	0,851	1,168	1,029	1,172	0,889
7	0,93	1,403		1,193	0,909
8	0,921	1,16		1,189	0,92
9	0,914	1,257			
10	0,875	1,299			
Rata-rata	0,886	1,279	1,073	1,118	0,898

Lampiran 6. (Lanjutan)

Tabel 14. Kelompok Dosis III (27 mg/20 gBB) Ekstrak Bayam Merah

Fetus ke-	Induk Mencit Ke-				
	1	2	3	4	5
1	1,02	1,484	1,307	1,323	0,955
2	1,01	1,475	1,257	1,268	0,943
3	0,992	1,354	1,299	1,307	1,12
4	0,889	1,364	1,255	1,322	1,085
5	0,952	1,427	1,332	1,169	1,075
6	0,918	1,357	1,16	1,268	1,02
7	0,872	1,351	1,168		1,1
8	0,978		1,321		1,11
9	0,99				
Rata-rata	0,958	1,402	1,262	1,276	1,043

Lampiran 7. Hasil Statistik

A. Uji Normalitas

Tujuan :

Untuk mengetahui apakah data persentase berat badan fetus terdistribusi normal atau tidak.

Ketentuan :

$P > 0,05$ = data terdistribusi normal

$P < 0,05$ = data tidak terdistribusi normal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		BB
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,9608
	Std. Deviation	,37424
Most Extreme Differences	Absolute	,110
	Positive	,079
	Negative	-,110
Test Statistic		,110
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan: Nilai sig $0,200 > 0,05$ H^0 diterima berarti data terdistribusi normal.

B. Uji Homogenitas

Tujuan :

Untuk mengetahui apakah persentase berat badan fetus terdistribusi homogen atau tidak

Ketentuan :

$P > 0,05$ = Data terdistribusi homogen

$P < 0,05$ = Data tidak terdistribusi homogen

Lampiran 7. (Lanjutan)

Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,720	4	20	,589

kesimpulan: Nilai sig > 0,05 H^o diterima berarti data terdistribusi homogen.

C. Uji Anova Satu Arah

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan berat badan fetus

Ketentuan :

$P > 0,05 = H_0$ diterima

$P < 0,05 = H_0$ ditolak

ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,614	4	,653	17,474	,000
Within Groups	,748	20	,037		
Total	3,361	24			

Kesimpulan: Nilai sig 0,000 < 0,05 H^o ditolak berarti adanya pengaruh perlakuan terhadap berat badan secara bermakna.

Lampiran 7. (Lanjutan)

D. Uji Tuckey

Tujuan : Uji lanjutan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna atau tidak dari setiap kelompok perlakuan

Ketentuan :

$P < 0,05$ = Terdapat perbedaan bermakna

$P > 0,05$ = Tidak terdapat perbedaan bermakna

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BB

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	dosis 1	,46900*	,12230	,008	,1030	,8350
	dosis 2	,26940	,12230	,219	-,0966	,6354
	dosis 3	,13200	,12230	,815	-,2340	,4980
	kontrol negatif	,92660*	,12230	,000	,5606	1,2926
Dosis 1	kontrol normal	-,46900*	,12230	,008	-,8350	-,1030
	dosis 2	-,19960	,12230	,495	-,5656	,1664
	dosis 3	-,33700	,12230	,080	-,7030	,0290
	kontrol negatif	,45760*	,12230	,010	,0916	,8236
Dosis 2	kontrol normal	-,26940	,12230	,219	-,6354	,0966
	dosis 1	,19960	,12230	,495	-,1664	,5656
	dosis 3	-,13740	,12230	,792	-,5034	,2286
	kontrol negatif	,65720*	,12230	,000	,2912	1,0232
Dosis 3	kontrol normal	-,13200	,12230	,815	-,4980	,2340
	dosis 1	,33700	,12230	,080	-,0290	,7030
	dosis 2	,13740	,12230	,792	-,2286	,5034
	kontrol negatif	,79460*	,12230	,000	,4286	1,1606
Kontrol Negatif	kontrol normal	-,92660*	,12230	,000	-1,2926	-,5606
	dosis 1	-,45760*	,12230	,010	-,8236	-,0916
	dosis 2	-,65720*	,12230	,000	-1,0232	-,2912
	dosis 3	-,79460*	,12230	,000	-1,1606	-,4286

Lampiran 7. (Lanjutan)

E. Persentase berat badan fetus

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	5	,3936		
dosis 1	5		,8512	
dosis 2	5		1,0508	1,0508
dosis 3	5		1,1882	1,1882
kontrol normal	5			1,3202
Sig.		1,000	,080	,219

Kesimpulan :

Semua ekstrak mampu menghambat kecacatan akibat paparan asap rokok, tetapi dosis satu tidak seefektif dosis dua dan dosis tiga.

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian



Gambar . Bayam Merah



Gambar . Proses Maserasi



Gambar . Serbuk Bayam Merah



Gambar . Ekstrak Bayam Merah



Gambar . Hewan Uji

Lampiran 8. (Lanjutan)



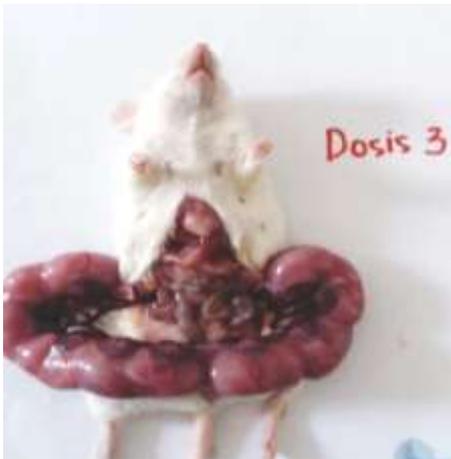
Gambar . Proses Penyaringan



Gambar . Mencit Hamil



Gambar . Penyuntikan Ketamin



Gambar . Pembedahan Mencit



Gambar . Fetus Mencit



Gambar . Timbangan Hewan



Gambar . Sumbat Vagina

Lampiran 8. (Lanjutan)



Gambar . Timbangan Analitik



Gambar . Proses Pemaparan



Gambar . Rotary Evaporator



Gambar . Smoke Chamber



Gambar . Sduit



Gambar . ketamin

Lampiran 8. (Lanjutan)



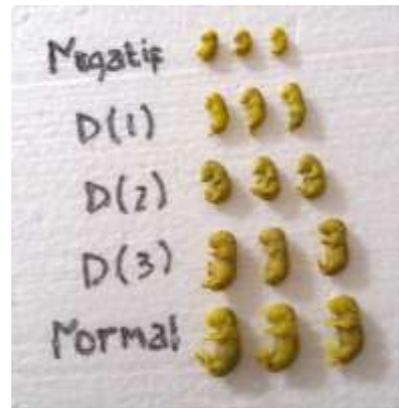
Gambar . Larutan Bouin



Gambar . Kleft Pallate



Gambar . Kontrol Normal & Negatif



Gambar . Perbandingan



Gambar . Resorpsi