

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

*Virgin coconut oil* (VCO) adalah produk alami minyak kelapa murni yang berasal dari buah kelapa segar yang memiliki banyak manfaat bagi tubuh, yaitu untuk mencegah tekanan darah tinggi dan penyakit liver, menjaga kesehatan jantung dan pembuluh darah, menjaga stamina tubuh, antioksidan mencegah penuaan dini, antibakteri, antijamur, antivirus. Minyak kelapa murni ini mempunyai aroma harum dan khas, produk VCO yang diolah secara mekanis dan menggunakan pemanasan yang relatif rendah.<sup>1</sup> *Virgin coconut oil* (VCO) memiliki kandungan asam lemak jenuh 90% asam lemak tak jenuh 10%. Asam lemak rantai sedang yang disebut *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) yang mendominasi VCO sebagian besar asam laurat dan asam kaprilat, kemudian asam lemak rantai sedang seperti asam miristat, asam kaprat, dan kaproat.<sup>2</sup> Selain itu, *Virgin coconut oil* (VCO) mempunyai kandungan antioksidan yang sangat tinggi *betakaroten*, dan *tokoferol*.<sup>3</sup>

Antioksidan pada *Virgin coconut oil* (VCO) dapat menghambat proses oksidasi, senyawa antioksidan menghambat dan memperlambat reaksi oksidasi dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas. Dimana kandungan dari antioksidan termasuk *karotenoid*, *flavonoid*, *vitamin E*, *tokoferol* dan *polifenol*.<sup>4</sup> Senyawa *tokoferol* dan *flavonoid* dipercaya dapat memengaruhi aktivitas antioksidan dan dapat meredam radikal bebas khususnya *Reactive Oxygen Species* (ROS).<sup>5</sup>

Salah satunya yang membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah asap rokok dimana akan meningkatkan berbagai penyakit dalam tubuh. Asap rokok merupakan radikal bebas yang dapat meningkatkan stress oksidatif pada sel. Kondisi dimana oksidan dalam tubuh berlebihan,

yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara produksi *Reactive Oxygen Species (ROS)* dalam tubuh dan mekanisme pertahanan antioksidan. Konsumsi antioksidan dapat menurunkan efek negatif akibat komponen berbahaya bagi tubuh.<sup>6</sup> Khususnya pada orang merokok dapat mengancam kesehatan, di dalam rokok memiliki kandungan zat yang berbahaya termasuk nikotin, tar, karbon monoksida, metanol, amonia, formaldehida, yang bersifat toksik, karsinogenik dan adiktif sehingga berdampak buruk bagi kesehatan.<sup>7</sup> Merokok telah menewaskan lebih dari 8 juta orang setiap tahun, termasuk 1,2 juta jiwa akibat paparan asap rokok. Pada tahun 2021 *Global Adult Tobacco Study (GATS)* mengatakan bahwa paparan asap rokok di tempat tertutup 44,8%, paparan asap rokok di tempat terbuka 74,2% dan paparan asap rokok di tempat tinggal 59,3%.<sup>8</sup>

Paparan asap rokok yang memicu radikal bebas dan terjadi stress oksidatif juga mengalami peningkatan aktivitas hematologi yaitu peningkatan jumlah leukosit. Leukosit adalah sel darah putih yang berperan dalam pertahanan tubuh terhadap serangan benda asing dan sistem sel abnormal. Meningkatnya jumlah leukosit dapat dikendalikan dengan cara mengonsumsi antioksidan (antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh). Dalam penelitian Putri, 2018 mengemukakan stress oksidatif yang dapat menyebabkan leukositosis. Stress oksidatif tersebut yang muncul akibat paparan asap rokok dihubungkan dengan peningkatan jumlah sitokin dan *granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)* yang mengakibatkan leukositosis. Pada penelitian tersebut disimpulkan bahwa pemberian kefir susu sapi dapat menurunkan jumlah leukosit serum darah tikus putih yang dipapar asap rokok.<sup>9</sup> Seperti pada penelitian Rahma, dkk 2019 mengatakan asap rokok yang merupakan sumber radikal bebas, dapat menyebabkan stress oksidatif yang sering dikaitkan dengan kerusakan jaringan dan menyebabkan respon inflamasi. Hal ini disebabkan respon inflamasi dalam tubuh terhadap organ yang meradang. Dari hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa selama 30 hari ubi jalar ungu menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna

terhadap kadar leukosit total tikus.<sup>10</sup> Pada penelitian Wulandari, dkk 2013 menyatakan bahwa dapat dilakukan pemberian perlakuan 4 batang rokok per hari selama 28 hari terhadap tikus putih jantan galur wistar.<sup>11</sup>

Beberapa penelitian yang mengemukakan manfaat *Virgin Coconut Oil (VCO)* sebagai antioksidan yang berkembang di tengah masyarakat juga diminatin oleh banyak masyarakat.<sup>12</sup> Penelitian yang dilakukan Maromon, dkk 2020 bahwa penggunaan VCO di tengah masyarakat dipercaya sebagai antibakteri, antioksidan, antivirus, dan antiinflamasi. Selain itu, VCO mengandung sejumlah komponen antioksidan berupa tokoferol, sterol, vitamin E dan betakaroten yang berfungsi sebagai antioksidan.<sup>13</sup>

Berdasarkan penjelasan ini, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian VCO terhadap jumlah leukosit tikus putih jantan galur wistar yang terpapar asap rokok.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh pemberian VCO terhadap jumlah leukosit tikus putih jantan galur wistar yang terpapar asap rokok?

## **1.3. Hipotesis**

Pemberian VCO dapat menurunkan jumlah leukosit tikus putih jantan galur wistar yang terpapar asap rokok.

## **1.4. Tujuan Penelitian**

### **1.4.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui apakah pemberian VCO berpengaruh sebagai antioksidan terhadap jumlah leukosit tikus putih jantan galur wistar yang terpapar asap rokok.

### **1.4.2. Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui efek pemaparan asap rokok terhadap jumlah leukosit tikus putih jantan galur wistar.

2. Untuk mengetahui efek pemberian VCO pada tikus putih jantan galur wistar yang terpapar asap rokok.
3. Untuk mengetahui dosis optimal VCO untuk mencegah peningkatan kadar leukosit pada tikus putih jantan galur wistar yang terpapar asap rokok.

## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1.5.1. Bagi Peneliti**

Menambah pengetahuan dan pengalaman dalam penulisan karya tulis ilmiah, terkhusus mengenai penelitian eksperimental pada hewan yang di uji yaitu tikus putih jantan galur wistar dan memperluas ilmu mengenai bahaya rokok terhadap jumlah leukosit dalam darah.

### **1.5.2. Bagi Instansi**

Menambah referensi di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan, sehingga penelitian ini dapat di manfaatkan sebagai dasar untuk melakukan penelitian lebih dalam bagi peneliti selanjutnya.

### **1.5.3. Bagi Masyarakat**

Menambah wawasan serta pengetahuan masyarakat mengenai pengaruh pemberian VCO sebagai antioksidan terhadap jumlah leukosit serta bahaya asap rokok terhadap kesehatan.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Virgin Coconut Oil (VCO)

##### 2.1.1. Definisi *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Minyak *Virgin Coconut Oil* (VCO) adalah minyak kelapa murni yang diperoleh dari kopra atau santan. Kandungan minyak dalam daging kelapa tua diperkirakan mencapai 30% hingga 35% atau kandungan dalam kopra mencapai 63-72%. Kebutuhan VCO. Hasil pengolahan kopra segar rendah air dan asam lemak bebas, tidak terlalu panas, berwarna bening dan harum.<sup>14</sup> Taksonomi tanaman kelapa (*Cocos nucifera. L*) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Subkerajaan	: <i>Tracheobionta</i>
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Sub kelas	: <i>Arecidae</i>
Ordo	: <i>Arceles</i>
Suku	: <i>Arecaceae</i>
Genus	: <i>Cocos L</i>
Jenis	: <i>Cocos nucifera L</i>

Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) harus memperhatikan kematangan buah kelapa. Buah Kelapa yang baik untuk membuat VCO yaitu kelapa segar dan kelapa tua. Minyak kelapa dari buah yang tua (10-12 bulan) memiliki lebih banyak minyak dalam daging buah yang lebih tinggi dan memiliki rasa dan bau yang khas. Proses produksi VCO dapat dilakukan secara kering yaitu dengan mengekstraksi minyak langsung dari kelapa kering atau secara basah dengan mengekstraksi minyak setelah

membuat santan baik secara fisik, mekanik dan enzimatis. Kedua proses ini akan menghasilkan ampas maupun *blondo* dengan ampas kelapa. Berdasarkan dari proses pembuatannya, ada beberapa metode produksi VCO, antara lain sebagai berikut: ekstraksi dingin/non-panas, metode pendinginan, pembekuan dan pencairan, metode sentrifugasi, metode ekstraksi enzimatis dan metode ekstraksi panas.<sup>15</sup>

### 2.1.2. Kandungan *Virgin Coconut Oil* (VCO)

*Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki bermacam manfaat bagi kesehatan karena VCO kaya akan kandungan yang bermanfaat, diantaranya :<sup>16</sup>

- a. Asam laurat yang bersifat antimikroba, yang akan bekerja sama dengan MCFA untuk membunuh bakteri patogen, mikroorganisme serta parasite.
- b. Vitamin E yang bersifat antioksidan, vitamin E dengan senyawa fenolik, polisterol, tokosterol dalam mencegah terjadinya oksidasi dan pembentukan radikal bebas.
- c. Asam lemak jenuh, yang memiliki ikatan tunggal untuk mencegah oksidasi dan hidrogenasi, produk akhirnya adalah radikal bebas dan lemak trans yang tidak sehat.

Minyak kelapa mengandung beberapa asam lemak. Bahan utamanya adalah asam laurat yang merupakan sejenis asam lemak jenuh. Asam laurat dalam minyak kelapa memiliki jumlah yang banyak. Dari komposisi asam lemak pada table dibawah, diantaranya ada yang berupa asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak jenuh diantaranya adalah Asam Laurat, Asam Miristat, Asam Plamitat, dan Asam Kaprilat,. Dan asam lemak tak jenuh yang terkandung dalam VCO yaitu Asam Oleat dan Asam Linoleat. Di bawah ini adalah komposisi asam lemak dalam vco pada table di bawah.<sup>17</sup>

Tabel 2.1 Kandungan VCO<sup>17</sup>

No.	Asam Lemak	Persentase (%)
1	Laurat	41-52 %
2	Miristat	13-19 %
3	Plamitat	7,5-10,5 %
4	Kaprilat	5-10 %
5	Linoleat	5-8 %
6	Oleat	1,5-2,5 %

### 2.1.3. Manfaat *Virgin Coconut Oil* (VCO)

*Virgin Coconut Oil* (VCO) juga bermanfaat untuk kesehatan. Produk VCO semakin banyak dicari oleh banyak konsumen karena VCO memiliki khasiat yang baik untuk kesehatan termasuk penurunan berat badan. VCO memiliki banyak manfaat, yaitu berfungsi untuk menggoreng makanan, VCO juga berperan dalam pencegahan penyakit jantung, kanker, diabetes, meningkatkan Pencernaan, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mencegah infeksi virus HIV dan SARS. VCO berisi beberapa Senyawa yang bermanfaat bagi tubuh dimana asam lemak rantai sedang tidak tertimbun karena dicerna oleh tubuh, antioksidan seperti *tokoferol* dan *betakaroten*, bermanfaat untuk mencegah penuaan dini dan memelihara vitalitas tubuh.<sup>18</sup>

Antioksidan dapat diproduksi secara endogen atau eksogen untuk membantu menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh antara lain glutathione, ubiquinone, dan asam urat. Sedangkan antioksidan eksogen yang paling ringan antara lain vitamin E dan *betakaroten*. Oksigen merupakan salah satu senyawa yang erat kaitannya dengan radikal bebas, oksigen ini juga mulai membentuk lebih banyak radikal bebas, yang dikenal sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS).<sup>19</sup>

## **2.2. Rokok**

### **2.2.1. Definisi**

Rokok adalah lintingan atau gulungan tembakau yang dililitkan/dibungkus dengan kertas, daun, atau kulit jagung, berukuran sekitar kelingking, dan biasanya dihisap oleh seseorang setelah dibakar. Rokok merupakan bahan kimia yang berbahaya, dibuat lebih dari 4.000 bahan kimia. Produksi rokok tetap menyebar luas di seluruh dunia, dengan konsumen yang terus meningkat WHO mengingatkan bahwa rokok merupakan salah satu pembunuh paling berbahaya di dunia.<sup>20</sup>

Rokok menyebabkan gangguan kesehatan termasuk penyakit kronis dan degeneratif seperti kanker, pertumbuhan pada anak terhambat, Asap rokok yang dihisap oleh si perokok (perokok aktif) dinamakan “asap utama”, sedangkan asap rokok yang dihirup dari si perokok oleh orang sekitar yang merokok (perokok pasif) dinamakan “asap sampingan”.<sup>21</sup>

Asap rokok merupakan suatu polutan berupa gas berupa asap yang mengandung berbagai zat kimia dengan efek negatif seperti karsinogen, dan toksik, asap rokok dapat meningkatkan risiko penyakit jantung koroner lebih besar dari pada efek yang akan diterima oleh perokok aktif.<sup>22</sup>

### **2.2.2. Kandungan Rokok**

Rokok memiliki kandungan dari berbagai bahan kimia yang berbahaya bagi kesehatan, sehingga asap rokok yang dihasilkan memiliki kandungan lebih dari 4000 bahan kimia, dimana terdapat 200 lebih yang bersifat beracun dan 40 lebih yang bersifat karsinogen (menyebabkan kematian). Adapun kandungan beracun yang terkandung didalam rokok yaitu.<sup>22,23</sup>

#### **1. Nikotin**

Nikotin adalah zat atau senyawa pirridin yang terdapat pada *Nicotiana tabacum*, *Nicotina tabacum* dan sintesisnya bersifat adiktif dan dapat menyebabkan kecanduan. Nikotin sangat adiktif dan beracun, tidak berwarna. Nikotin yang dihirup dari asap rokok masuk



ke paru-paru dan masuk ke aliran darah, kemudian masuk ke otak perokok dalam waktu 7-10 detik.

2. Tar

Tar adalah komponen dari pembakaran asap rokok yang bersifat karsinogenik. Cairan berwarna coklat tua atau hitam yang menempel dan menempel pada paru-paru sehingga dapat membuat gigi dan kuku perokok menjadi coklat, serta paru-paru. Tar dalam asap rokok melumpuhkan silia di saluran udara dan menyebabkan penyakit paru-paru lainnya

3. Karbon Monoksida (CO)

Karbon monoksida adalah zat beracun yang tidak berwarna dan tidak berbau. Unsur ini dihasilkan oleh pembakaran karbon yang tidak sempurna atau unsur karbon. sel darah merah akan semakin kekurangan oksigen karena CO yang diangkut sebagai gantinya oksigen.

4. Methyl Chloride

Methyl Chloride adalah campuran dari zat bervalensi satu, elemen utamanya adalah hidrogen dan karbon. Zat ini merupakan senyawa organik yang dapat bersifat racun.

### 2.2.3. Radikal Bebas Dalam Asap Rokok

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan tidak stabil berumur pendek dan sangat responsif melepaskan elektron dari molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang diinduksi potensi kerusakan biomolekul dengan mengubah integritas lipid, protein dan DNA menyebabkan peningkatan stres oksidatif seperti penyakit diabetes melitus, penyakit jantung, penuaan dini, bahkan kanker.<sup>24</sup>

Pada asap rokok merupakan campuran banyak kompleks dari senyawa kimia, yang mengandung radikal bebas dan oksidan dan bersama dengan kadar antioksidan yang rendah, peningkatan stres oksidatif dan

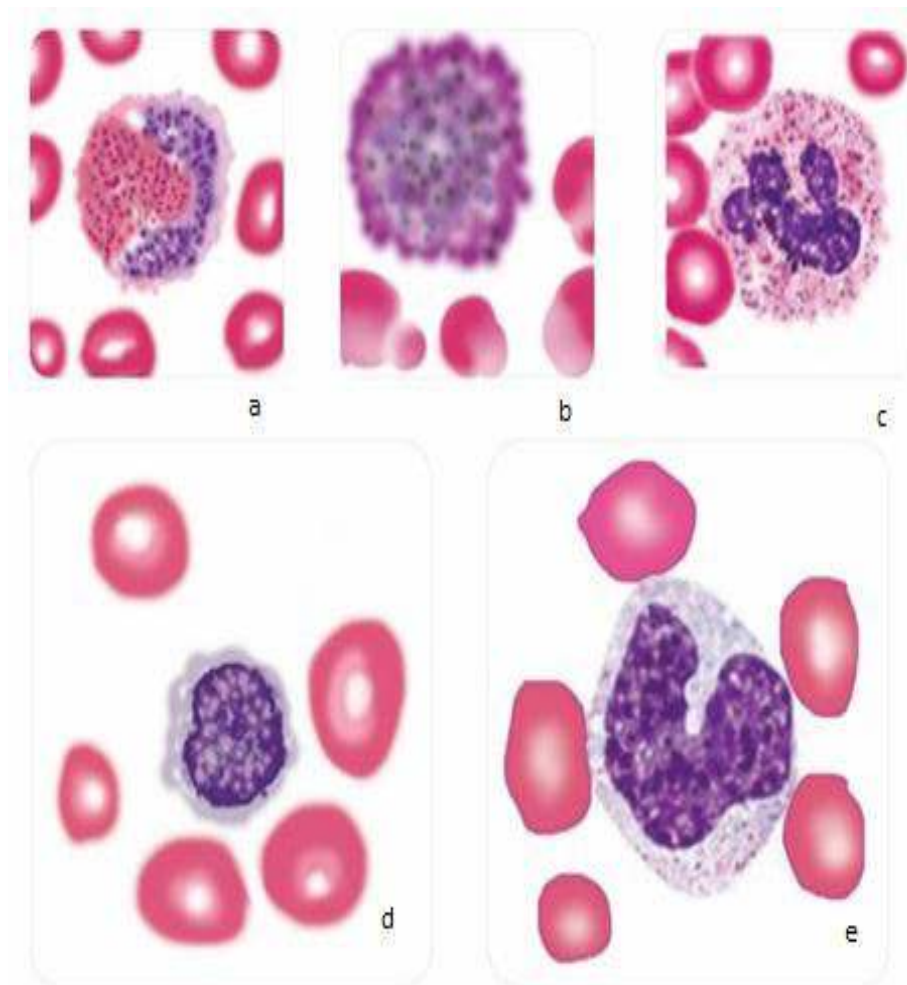
kerusakan serta peningkatan risiko beberapa penyakit kronis seperti kanker paru, saluran pernafasan, dan penyakit kardiovaskuler.<sup>25</sup>

Asap rokok adalah sumber radikal bebas yang banyak di sekitaran kita. *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berasal dari asap rokok berasal dari sumber eksogen. ROS dalam asap rokok menyebabkan stres oksidatif, terutama pada leukosit, karena leukosit merupakan senyawa pengoksidasi yang sangat reaktif yang berasal dari oksigen.<sup>26</sup>

## **2.3. Leukosit**

### **2.3.1. Struktur Leukosit**

Sel darah putih (leukosit) merupakan bagian penting dari sistem pertahanan tubuh yang berfungsi melawan mikroorganisme penyebab infeksi, sel tumor, dan zat asing berbahaya.<sup>27</sup> Sel darah putih (leukosit) terbagi atas dua kelompok yaitu granulosit dan agranulosit. Granulosit merupakan sel yang mempunyai lobus atau segmen pada inti sel dan granula pada sitoplasma, yang terdiri atas neutrofil, eosinofil, serta basofil. Sedangkan agranulosit merupakan sel yang tidak memiliki segmen ataupun lobus pada inti serta tidak terdapat granula pada sitoplasma, terdiri atas monosit dan limfosit. Karena jumlah leukosit tersebut berubah-ubah dari waktu ke waktu, sesuai dengan jumlah benda asing yang dihadapi. Leukosit adalah sel darah yang mengandung inti, disebut juga sel darah putih. Rata-rata jumlah leukosit dalam darah manusia normal adalah 4000-10.000 sel/ $\mu$ L, pada tikus 7.475-11.700 sel/ $\mu$ L, bila jumlahnya lebih dari 11.700 sel/ $\mu$ L, keadaan ini disebut leukositosis, bila kurang dari 7.475 sel/ $\mu$ L disebut leukopenia. Sel darah putih memiliki ciri-ciri antara lain tidak berwarna (bening), bentuk tidak tetap (ameboid), berinti dan ukurannya lebih besar dari pada sel darah merah (eritrosit).<sup>28</sup>



Gambar 2.1 Jenis-jenis Leukosit (a) eosinofil, (b) basofil, (c) neutrofil, (d) limfosit, dan (e) monosit.<sup>29</sup>

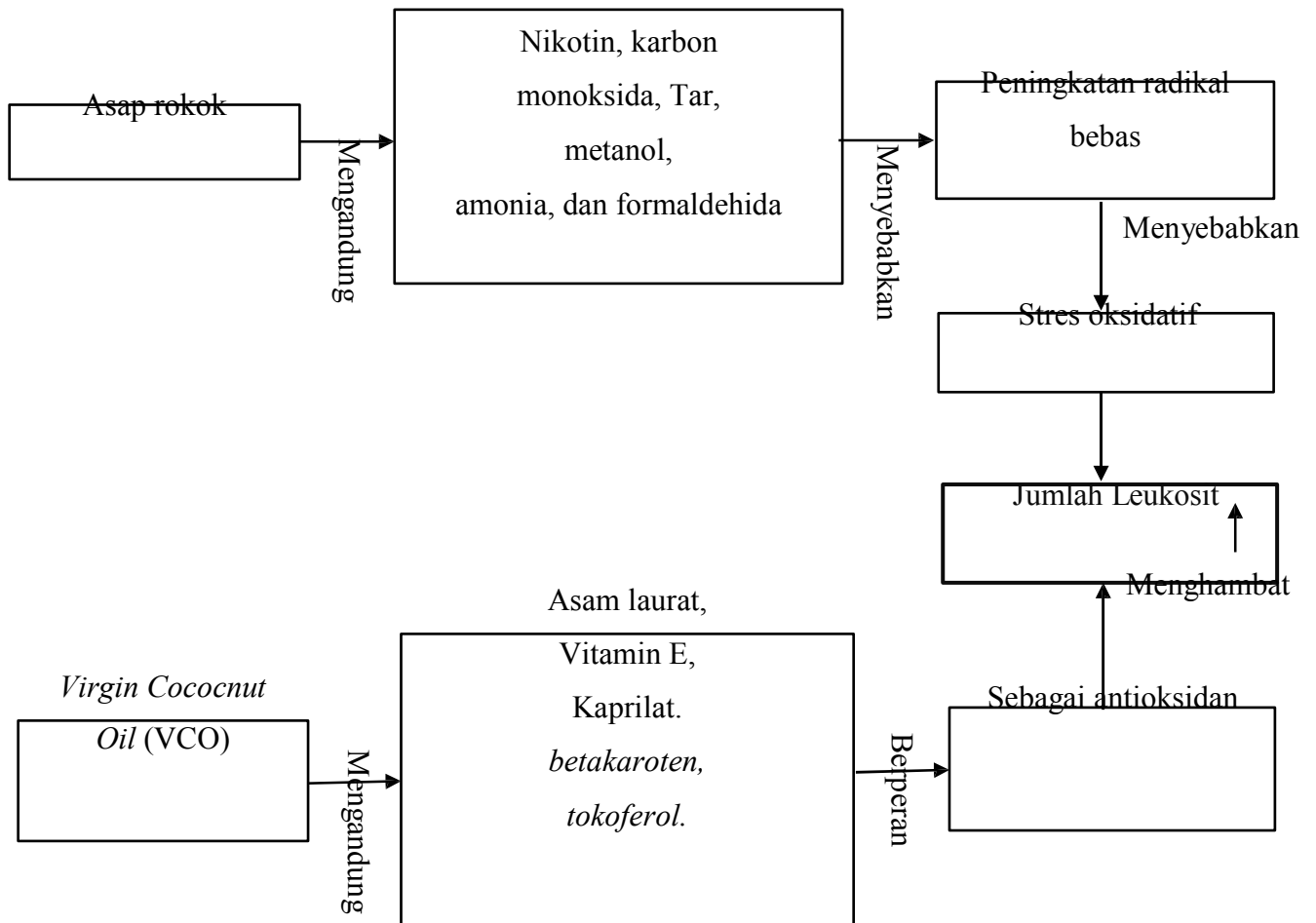
### 2.3.2. Proses Pembentukan Leukopoiesis (Leukosit)

Leukopoiesis merupakan proses pembentukan leukosit. Proses ini dirangsang oleh *Colony Stimulating Factor* (CSF) dan dihasilkan oleh leukosit matur. Pembentukan leukosit terjadi di sumsum tulang (terutama seri granulosit), akan disimpan dalam sumsum tulang sampai diperlukan dalam sistem sirkulasi darah. Granulosit akan dilepaskan pada sirkulasi darah jika kebutuhannya meningkat. Proses pembentukan limfosit terjadi pada beberapa jaringan, yaitu sumsum tulang, timus, limpa, dan *limfonoduli*. Sedangkan proses pembentukannya dirangsang oleh timus

dan adanya paparan antigen. Pertambahan jumlah leukosit terjadi melalui proses mitosis, yaitu proses pertumbuhan dan pembelahan sel yang berurutan. Sel-sel ini membelah diri dan berkembang menjadi leukosit matur dan dilepaskan dari sumsum tulang ke sirkulasi darah. Leukosit berada dalam peredaran darah  $\pm$  1 hari kemudian masuk ke dalam jaringan sampai beberapa minggu atau bulan tergantung pada jenis leukositnya.<sup>30</sup>

#### **2.4. Kerangka Teori**

Asap rokok Mengandung zat berbahaya, yaitu nikotin, tar, karbon monoksida, metanol, amonia, formaldehida, yang bersifat toksik, karsinogenik dan adiktif sehingga berdampak buruk bagi kesehatan. Dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas yang memicu timbulnya stress oksidatif dan terjadi peningkatan jumlah leukosit. Peningkatnya jumlah leukosit dapat dikendalikan dengan cara mengonsumsi antioksidan. Antioksidan dapat diproduksi secara endogen atau eksogen untuk membantu menetralsir radikal bebas dalam tubuh (antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh), dimana antioksidan ditemukan pada *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang mengandung Asam laurat, Vitamin E, Kaprilat *betakaroten, tokoferol*. Dimana *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat berperan sebagai antioksidan yang menghambat peningkatan jumlah leukosit.



Gambar 2.2 Kerangka Teori

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

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

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1. Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara dan Laboratorium Kesehatan Daerah Medan (LABKESDA) Jl. Willem Iskandar Pasar V Barat No. 4 Medan. Pada Laboratorium Farmasi akan dilakukan mulai dari pemeliharaan dan memberikan perlakuan terhadap hewan uji. Pada LABKESDA akan dilakukan pemeriksaan jumlah leukosit.

##### **3.2.2. Waktu Penelitian**

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Agustus sampai Desember 2022

#### **3.3. Populasi Penelitian**

##### **3.3.1. Populasi Target**

Penelitian ini menggunakan Tikus Putih Jantan Galur Wistar

#### **3.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel**

##### **3.4.1. Sampel**

Tikus Putih Jantan Galur Wistar

##### **3.4.2. Estimasi Besar Sampel**

Penentuan besar sampel dilakukan dengan penggunaan rumus Federer :<sup>31</sup>

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

Keterangan :

t = Kelompok perlakuan

n = jumlah sampel untuk 1 kelompok perlakuan

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

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Besar sampel = t x n

$$= 4 \times 6$$

$$= 24 \text{ ekor tikus}$$

Untuk mengantisipasi kemungkinan sampel yang terpilih mengalami *dropout* maka dilakukan koreksi dengan menggunakan rumus sebagai berikut :<sup>31</sup>

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

Keterangan :

N = jumlah sampel koreksi

n = jumlah sampel awal

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

$$= \frac{N}{n}$$

$$= \frac{40}{4}$$

$$= 10$$

$$= 7$$

Jumlah tikus cadangan = Jumlah kelompok perlakuan x (n' - n)

$$= 4 \times (7-6)$$

$$= 4 \times 1$$

$$= 4 \text{ ekor}$$

### 3.4.3. Penentuan Jumlah Sampel Tikus

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



- a. Kelompok perlakuan 1 diberi pakan standart
- b. Kelompok perlakuan 2 diberi pakan standart dan dipapar asap rokok
- c. Kelompok Perlakuan 3 (P1) pakan standar, dipapar asap rokok dan diberi *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebanyak 0,45 ml
- d. Kelompok Perlakuan 4 pakan standart, dipapar asap rokok dan diberi VCO sebanyak 0,9 ml

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

#### **3.5.1. Kriteria Inklusi**

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

#### **3.5.2. Kriteria Eksklusi**

1. Hewan uji mati selama penelitian

### **3.6. Alat dan Bahan**

Alat :

- Alat bedah minor
- Sarung tangan
- *Smoking Chamber*
- *Smoking pump* (sprit 60cc)
- Sonde Lambung
- Pipet Hematokrit
- Tabung *Eppendorf*
- *Container box*

- *Alat Blood Roller Mixer*

Bahan :

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

### 3.7. Prosedur Kerja

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

1. Peneliti meminta izin dengan mengurus *ethical clearance* yang diajukan ke institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan.
2. Peneliti juga meminta izin permohonan pelaksanaan penelitian pada laboratorium yang akan diajukan kepada ke institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan.
3. Peneliti mengajukan surat ijin penelitian kepada laboratorium tempat penelitian.
4. Penyiapan hewan uji  
Hewan uji diadaptasi terlebih dahulu selama 5 hari di *animal house*, dimana hewan yang digunakan sebanyak 24 ekor kemudian dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yang masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor dalam satu kandang.
5. Persiapan dan pemaparan asap rokok

Kandang tikus akan didesain menjadi *smoking chamber* yang tidak memiliki ventilasi kecuali lubang untuk rokok, pipa dan spuit, sehingga sebagian besar dari asap rokok tersebut akan dihirup oleh tikus. Rokok yang digunakan adalah rokok kretek

merek Djarum. Alat yang digunakan untuk memompa asap rokok kedalam adalah *smoking pump* yang dimodifikasi dari spuit 60cc. Nantinya ujung spuit tersebut disambungkan dengan pipa yang sudah terhubung dengan rokok kretek. Kemudian asap rokok di pompa kedalam *smoking chamber* hingga 4 batang rokok habis terbakar. Pemaparan asap rokok Gudang Garam Merah. Paparan asap rokok dilakukan dari jam 10.00-13.00 WIB. Tikus dipaparkan 1 batang rokok lalu tikus di istirahatkan selama 5 menit, dan dilakukan kembali hal yang sama hingga pemaparan 4 batang rokok selesai. Perlakuan ini akan dilakukan mulai dari hari ke-1 hingga hari ke-28 hari menggunakan 4 batang per hari. Lalu setelah 28 hari dipapar asap rokok, pada hari yang ke 29 akan dilakukan pengambilan sampel darah.

#### 6. Penyiapan dan pemberian Virgin Coconut Oil (VCO)

Setelah 2 jam kemudian dilakukan pemberian *Virgin Coconut Oil* (VCO) pada jam 15.00 WIB. *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang digunakan pada penelitian ini adalah VCO yang dibeli dari Supermarket terdekat dan tanpa ada pengenceran. Adapun dosis VCO yang ditentukan berdasarkan tabel *laurance* 0,018 dan penggunaan oleh masyarakat yaitu 50 ml/hari dan 25 ml/hari, lalu dikonversi ke tikus. Yaitu : Pemberian VCO dengan dosis VCO 0,9 ml/200 gr BB/hari, dan 0,45 ml/200 gr BB/hari didapatkan hasil dari konversi dosis 50 ml, 25 ml dari manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gr.

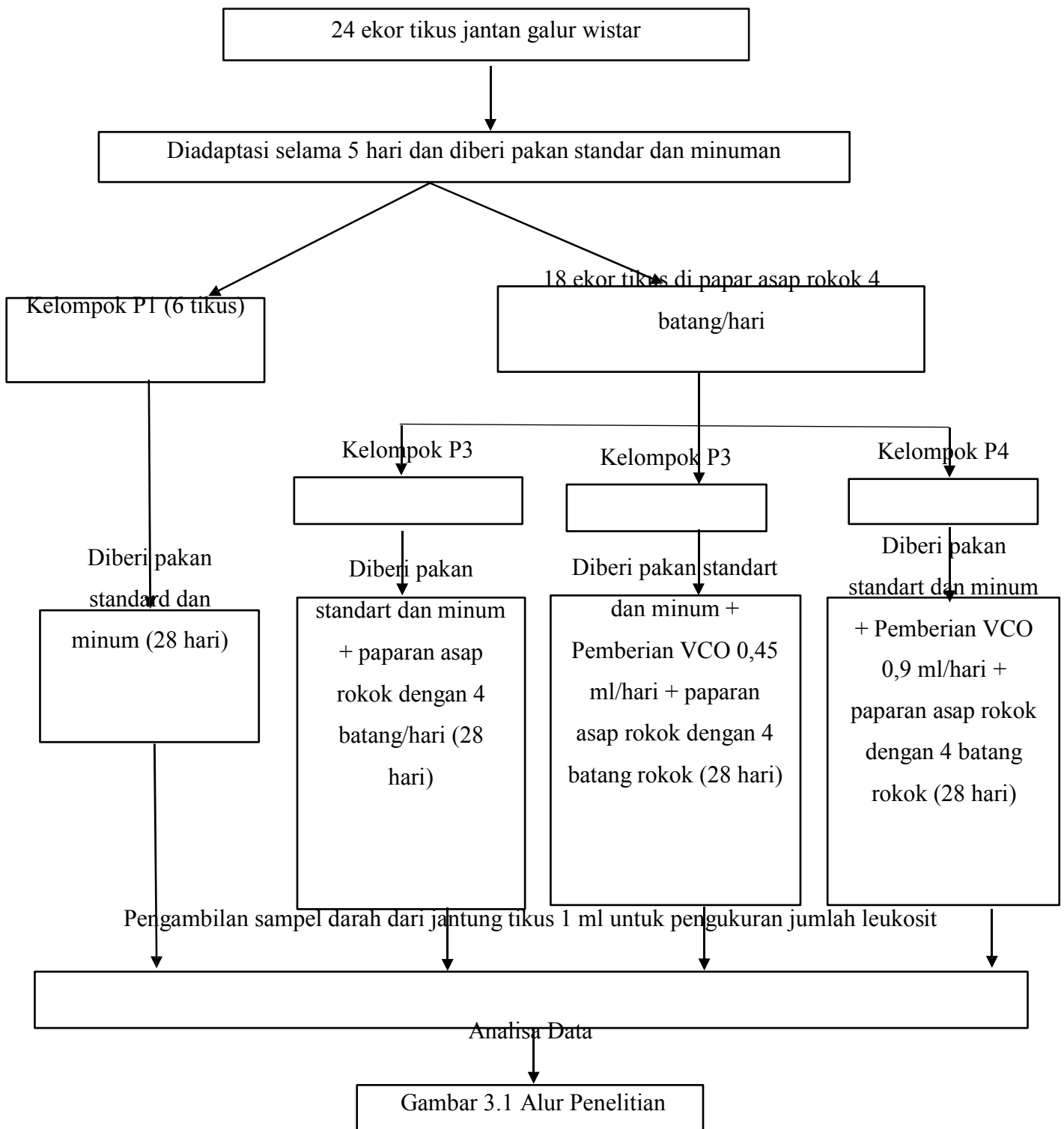
(1). Dosis I 50 ml :  $50 \text{ ml} \times 0,018 = 0,9 \text{ ml}/200 \text{ gr}$

(2). Dosis II 25 ml :  $25 \text{ ml} \times 0,018 = 0,45 \text{ ml}/200 \text{ gr}$

#### 7. Pengambilan Sampel Darah dan Pembacaan Hasil

Sampel darah diambil sebanyak 1ml dari jantung tikus. Sebelum pembedahan, tikus terlebih dahulu dipuasakan selama 12 jam , setelah itu dilakukan dislokasi leher dan dilanjutkan mengambil sampel darah. Proses pengambilan sampel darah

dimulai dengan memposisikan tikus dengan posisi terlentang di baki. Kemudian dilakukan insisi *midline* pada otot dinding perut dimulai dari ujung sampai ke simfisis pubis. Setelah di insisi, dicarilah letak jantung tikus dimana berada tepat di bagian kiri dada antara costae ke-3 dan ke-4. Lalu, masukkan jarum suntik sedalam 5mm ke bagian jantung dimulai dari torak menuju dagu hingga membentuk sudut 25-30°. Darah diambil sebanyak 1ml kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000rpm selama kurang lebih 5 menit untuk memisahkan serum dengan sel darah. Setelah di sentrifugasi, sampel darah diambil dengan menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* yang berisi EDTA. Jumlah leukosit diperiksa dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer*.



### 3.8. Identifikasi Variabel

#### 3.8.1. Variable Independen

Pemberian VCO dan paparan asap rokok

#### 3.8.2. Variable Dependent

Jumlah leukosit tikus putih jantan galur wistar

### 3.9. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Jumlah Leukosit	Leukosit adalah sel darah putih yang berperan melindungi tubuh dari infeksi, nilai leukosit yang dihitung dengan mengambil sampel darah sebanyak 1ml dari jantung tikus jantan galur wistar	Alat <i>Hematology Analyzer</i>	$10^3/\mu\text{L}$	Rasio
2.	VCO	VCO merupakan produk alami minyak kelapa murni yang berasal dari buah kelapa segar dengan proses pengolahannya tidak menggunakan pemanasan tinggi dan tidak melalui proses kimiawi.	-	ml	Rasio

---

3.	Paparan Asap Rokok	Paparan asap rokok yang merupakan radikal bebas yang dapat menurunkan kemampuan biologis pada sel dan menyebabkan peningkatan stress oksidatif pada sel.	-	-	batang rokok/hari	-
----	--------------------	--	---	---	-------------------	---

---

### 3.10. Analisa Data

Analisis terhadap jumlah leukosit dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak komputer. Pertama dilakukan uji normalitas dengan menggunakan Uji *Shapiro-Wilk* pada data jumlah leukosit, Jika data terdistribusi normal dan dilanjutkan menggunakan metode *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok. Apabila hasil perbedaan signifikan, dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc* Bonferroni untuk menganalisis antar kelompok mana yang paling berpengaruh perbedaannya.