



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Gedung D12 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229
Telp. +62248508112/+62248508005 Fax. +62248508005
Laman: <http://fmipa.unnes.ac.id>, email : mipa@mail.unnes.ac.id

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK
PELAKSANAAN PENELITIAN BAGI DOSEN
TAHUN ANGGARAN 2019
Nomor : 98.31.5/UN37/PPK.4.4/2019**

Pada hari ini **Jumat** tanggal **Tiga Puluh Satu** bulan **Mei** tahun **Dua Ribu Sembilan Belas**, kami yang bertandatangan dibawah ini:

1. **Prof. Dr. Sudarmin, M.Si.** : **Pejabat Pembuat Komitmen** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang yang berkedudukan di Semarang, berdasarkan Keputusan Rektor Universitas Negeri Semarang Nomor : 1/P/2019 tanggal 2 Januari 2019, dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama KPA Universitas Negeri Semarang, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;
2. **Dr Lisdiana M.Si** : **Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang**, dalam hal ini bertindak sebagai Ketua Pelaksana Penelitian tahun anggaran 2019 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**

Perjanjian penugasan ini berdasarkan kepada:

1. Keputusan Rektor Universitas Negeri Semarang Nomor 617/P/2018 tanggal 23 November 2018 tentang Pengangkatan Dekan FMIPA UNNES Antarwaktu masa jabatan 2015-2019
2. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Negeri Semarang (UNNES) Nomor 042.01.2.400899/2019, tanggal 5 Desember 2018
3. Surat Keputusan Dekan Nomor T/5370/UN37.1.4/PT.01.02/2019 tanggal 28 Mei 2019 tentang Penentuan Hasil Penelitian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA** secara bersama-sama bersepakat mengikatkan diri dalam suatu Perjanjian Pelaksanaan Penelitian dengan ketentuan dan syarat-syarat diatur dalam Pasal-Pasal berikut :

Pasal 1

- (1) **PIHAK PERTAMA** memberi tugas kepada **PIHAK KEDUA**, dan **PIHAK KEDUA** menerima tugas tersebut untuk melaksanakan Penelitian Unggulan PT Dasar Pendidikan (Fakultas) tahun 2019 dengan judul "Analisis Kadar Superoksida Dismutase (SOD) dan Malondialdehid (MDA) Pada Tikus Yang Terpapar E- Cigarette".
- (2) **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab penuh atas pelaksanaan, administrasi dan keuangan atas pekerjaan/kegiatan sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dan berkewajiban menyerahkan semua bukti-bukti pengeluaran serta dokumen pelaksanaan lainnya kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (3) Pelaksanaan Penugasan Penelitian Dosen tahun 2019 sebagaimana dimaksud pada ayat (1) didanai dari DIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES) Nomor 042.01.2.400899/2019, tanggal 5 Desember 2018

Pasal 2

- (1) **PIHAK PERTAMA** memberikan dana untuk kegiatan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 sebesar **Rp.10.000.000,00 (Sepuluh Juta Rupiah)** yang dibebankan kepada DIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES) 042.01.2.400899/2019, tanggal 5 Desember 2018
- (2) Pelaksanaan Penelitian yang dimaksud pada ayat (1) dimulai sejak tanggal 28 Mei 2019 sampai dengan tanggal 31 Oktober 2019 (154 hari kalender)
- (3) Dana pelaksanaan Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
 - a) Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total bantuan dana kegiatan yaitu $70\% \times \text{Rp.10.000.000,00 (Sepuluh Juta Rupiah)} = \text{Rp.7.000.000,00 (Tujuh Juta Rupiah)}$, dibayarkan setelah **PIHAK KEDUA** menyerahkan dokumen dibawah ini :
 1. Proposal asli yang telah direvisi dan disahkan oleh Pejabat yang berwenang sebanyak 1 (satu) eksemplar
 2. Instrumen penelitian yang telah disetujui Tim Evaluasi sebanyak 2 (dua) eksemplar
 3. Menyerahkan Berita Acara Evaluasi Hasil Instrumen yang di tandatangi oleh Pihak Pertama dan Pihak Kedua, dilampiri Nota Persetujuan Instrumen Penelitian.
 - b) Pembayaran Tahap Kedua/Terakhir sebesar 30% dari total bantuan dana kegiatan yaitu $30\% \times \text{Rp.10.000.000,00 (Sepuluh Juta Rupiah)} = \text{Rp.3.000.000,00 (Tiga Juta Rupiah)}$, dibayarkan setelah **PIHAK KEDUA**
 1. **Mengunggah ke laman sipp.unnes.ac.id** dokumen sebagai berikut:
 - a. Laporan kemajuan penelitian 70%, selambat-lambatnya **30 Agustus 2019**
 - b. Laporan akhir, laporan keuangan 100%, artikel ilmiah selambat-lambatnya **31 Oktober 2019**
 2. **Mengumpulkan ke FMIPA UNNES** dokumen sebagai berikut :
 - a. Laporan penggunaan anggaran 70% dan laporan kemajuan penelitian 70%, masing-masing 1 (satu) eksemplar, selambat-lambatnya **30 Agustus 2019**
 - b. Hardcopy Laporan akhir sebanyak 1 (satu) eksemplar, artikel, catatan harian (*log book*), laporan penggunaan anggaran 30%, laporan keuangan 100% masing-masing 1 (satu eksemplar) selambat-lambatnya **31 Oktober 2019**
 - c. Dokumen a dan b tertuang dalam BAST Hasil Penelitian yang ditanda tangani oleh Pihak Pertama dan Pihak Kedua
- (4) **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab mutlak dalam pembelanjaan dana tersebut pada ayat (1) sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui dan berkewajiban untuk menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** semua bukti-bukti pengeluaran sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA**.
- (5) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyerahkan Laporan Pelaksanaan Penelitian dan laporan pertanggungjawaban keuangan kegiatan beserta rekapitulasi kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (6) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengembalikan sisa dana yang tidak dibelanjakan ke Kas BLU.
- (7) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyampaikan foto copy bukti pengembalian Dana ke Kas BLU kepada **PIHAK PERTAMA**

Pasal 3

Dana Penelitian sebagaimana dimaksud Pasal 2 ayat (1) dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** secara langsung melalui Bendahara pengeluaran ke rekening BNI Capem Unnes no rekening 0240548757 atas nama Dr Lisdiana M.Si

Pasal 4

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menindaklanjuti dan mengupayakan hasil program penelitian berupa hak kekayaan intelektual dan atau publikasi ilmiah sesuai dengan luaran yang dijanjikan pada proposal.
- (2) Perolehan hasil sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dimanfaatkan sebesar-besarnya untuk pelaksanaan Tri Dharma Perguruan Tinggi.
- (3) Penilaian kemajuan pelaksanaan penelitian dilakukan oleh **PIHAK PERTAMA**, sedangkan **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengumpulkan laporan kemajuan dan bukti-bukti pengeluaran dana kepada **PIHAK PERTAMA**, dan menggungahnya pada laman sipp.unnes.ac.id dengan berpedoman kepada prinsip-prinsip dan/atau kaidah Penelitian dan pengelolaan keuangan Negara.

Pasal 5

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengumpulkan laporan kemajuan dan penggunaan anggaran 70% sebanyak 1 (satu) eksemplar paling lambat tanggal **30 Agustus 2019** kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (2) **PIHAK PERTAMA** melakukan Monitoring dan Evaluasi Internal terhadap kemajuan pelaksanaan program Penelitian tahun 2019.

Pasal 6

Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi pelaksanaan penelitian dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan tertulis dari Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Pasal 7

- (1) **PIHAK KEDUA** harus menyampaikan Surat Pernyataan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang dibuktikan dengan Berita Acara Penyelesaian Pekerjaan (BAPP) kepada **PIHAK PERTAMA** berupa Laporan Hasil Program Penelitian dan laporan keuangan 100% selambat-lambatnya tanggal **31 Oktober 2019**.
- (2) Laporan hasil pelaksanaan Penelitian tersebut pada ayat (1) di atas harus memenuhi ketentuan sebagaimana tercantum pada Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Tahun 2019.
- (3) Hardcopy laporan penelitian wajib diserahkan kepada **PIHAK PERTAMA** sebanyak 1 (satu) eksemplar (dokumen laporan untuk anggota, perpustakaan dan Fakultas menjadi tanggung jawab **PIHAK KEDUA**).
- (4) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan Program Penelitian telah berakhir, **PIHAK KEDUA** belum menyelesaikan tugasnya dan atau terlambat mengirim laporan kemajuan dan atau terlambat mengirim laporan akhir, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan sanksi denda sebesar 1 ‰ (satu permil) setiap hari keterlambatan sampai dengan setinggi-tingginya 5% (lima persen), dihitung dari tanggal jatuh tempo sebagaimana tersebut pada ayat (1), (2) dan (3), yang terdapat dalam Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2019.
- (5) Denda sebagaimana dimaksud pada ayat (4) disetorkan ke Kas BLU serta foto copy bukti setor denda ke kas BLU dan diserahkan kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 8.

- (1) Apabila **PIHAK KEDUA** selaku ketua pelaksana tidak dapat melaksanakan Penelitian ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib menunjuk pengganti ketua pelaksana penelitian yang merupakan salah satu anggota tim setelah mendapat persetujuan tertulis dari Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.



- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 maka harus mengembalikan dana yang telah diterimanya ke Kas BLU serta menyerahkan fotocopy bukti pengembalian ke kas BLU kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (3) Apabila dikemudian hari terbukti bahwa judul Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 dijumpai adanya indikasi duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau diperoleh indikasi ketidakjujuran/itikad kurang baik yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah, maka kegiatan Penelitian tersebut dinyatakan batal, dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana Penelitian yang telah diterima ke Kas BLU serta menyerahkan fotocopy bukti pengembalian ke kas BLU kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 9

PIHAK KEDUA berkewajiban memungut dan menyetor pajak ke kantor pelayanan pajak setempat yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa:

- (1) pembelian barang dan jasa dikenai PPN sebesar 10%, PPh 22 sebesar 1,5% dan PPh 23 sebesar 2%;
- (2) belanja honorarium dikenai PPh Pasal 21 dengan ketentuan:
 - a. 5% bagi yang memiliki NPWP untuk golongan III, serta 6% bagi yang tidak memiliki NPWP;
 - b. untuk golongan IV sebesar 15%; dan
- (3) pajak-pajak lain sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 10

- (1) Hak Kekayaan Intelektual yang dihasilkan dari pelaksanaan Penelitian tersebut diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan dan perundang-undangan yang berlaku.
- (2) Hasil Penelitian berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari kegiatan ini adalah milik negara yang dapat dihibahkan kepada institusi/lembaga/masyarakat melalui Surat Keterangan Hibah.

Pasal 11

- (1) Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses Hukum yang berlaku dengan memilih domisili Hukum di Pengadilan Negeri Semarang.
- (2) Hal-hal yang belum diatur dalam perjanjian ini akan diatur kemudian oleh kedua belah pihak.

Pasal 12

Surat Perjanjian Kerja Pelaksanaan Penelitian Tahun 2019 ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, dan biaya materai dibebankan kepada **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA



Prof. Dr. Sudarmin, M.Si
NIP.196601231992031003

PIHAK KEDUA

Dr Lisdiana M.Si
NIP.195911191986032001



Scan
Can

BIOTEKNOLOGI

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
FMIPA UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**



**ANALISIS KADAR *SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)* DAN
MALONDIALDEHYD (MDA) PADA TIKUS YANG TERPAPAR
E- CIGARETTE**

Tim Pengusul :

Dr. Lisdiana, M.Si.

NIDN 0019115914

Sriyadi, S. Pd.

NIP 198509032009121004

Ria Ika Maharani, M. Si.

NIP 198208082010122005

dibiayai oleh :

DIPA UNNES Nomor 042.01.2.400899/2019, Tanggal 5 Desember 2018

**Sesuai dengan Surat Perjanjian Kontrak Pelaksanaan Penelitian Bagi Dosen Tahun Anggaran
2019 Nomor : 98.31.5/UN37/PPK.4.4/ 2019**

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

OKTOBER 2019

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(SKEMA PENGEMBANGAN)**

Judul Penelitian : Analisis Kadar *Superoksida Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehyd* (MDA) pada Tikus yang Terpapar E-Cigarette

Nama Rumpun Ilmu : Bioteknologi
Bidang Kajian : Medical Science

Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap : Dr. Lisdiana, M.Si
- b. NIDN : 0019115914
- c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
- d. Program Studi : Pendidikan Biologi
- e. Nomor Hp : 08122855690
- f. E- mail : lisdiana@mail.unnes.ac.id

Anggota Peneliti (1)

- a. Nama Lengkap : Sriyadi, S. Pd.
- b. NIP : 198509032009121004
- c. Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Semarang

Anggota Peneliti (2)

- a. Nama Lengkap : Ria Ika Maharani, M.Si
- b. NIP : 198208082010122005
- c. Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Semarang

Staff Pendukung Penelitian : 1 Orang

Mahasiswa terlibat Penelitian

- 1. Izzatun Nufus NIM : 4411415016
- 2. Mira Putri Agustin NIM : 4411415004
- 3. Muhammad Wildan NIM : 4411415057

Biaya Penelitian Keseluruhan

- Biaya Tahun Berjalan : Rp 10.000.000,- (Sepuluh Juta Rupiah)
- Dana Internal PT : Rp 10.000.000,- (Sepuluh Juta Rupiah)
- Dana Institusi Lain

Semarang, 16 September 2019



Menyetujui,
Ketua FMIPA
Dr. Sugianto, M. Si.
NIP. 196102191993031001

Ketua Peneliti

Dr. Lisdiana, M.Si.
NIP. 195911191966032001

Menyetujui
Ketua L.P2M UNNES

Dr. Suwito Eko Pramono, M.Pd.
NIP. 195809201985031003

RINGKASAN

E-Cigarette atau Vape adalah modifikasi rokok berupa alat yang berisi cairan dan dioperasikan dengan baterai. Cairan dalam rokok elektrik mengandung propelin glikol, gliserol, air suling, perasa dan nikotin pelarut atau *nikotin plus plester*. yang akan berubah menjadi nitronisme bila terkena panas dan bersifat toksik bagi tubuh. Prinsip kerja rokok elektrik adalah merubah zat-zat kimia yang terkandung dalam cairan menjadi uap hasil pemanasan baterai dan megalirkannya ke tubuh perokok. Saat ini banyak perokok beralih menggunakan rokok elektrik, dengan harapan mereka tidak terkena dampak dari bahaya merokok, seperti kerusakan struktur organ paru dan juga fungsi fisiologis lainnya di dalam tubuh. Dalam jangka panjang penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek buruk penggunaan E-Cigarette atau rokok elektrik terhadap organ organ yang terkait dalam sistem respirasi, reproduksi, sirkulasi dan system imunitas dan juga upaya recovery dengan menggunakan herbal yang mengandung antioksidan yang sesuai dengan jenis kerusakan. Hasil penelitian yang telah dilakukan menjelaskan bahawa paparan E-Cigarette dapat menyebabkan kerusakan stuktur alveolus dengan indicator bertambahnya jumlah makrofage alveolar, sedangkan indicator fisiologis belum banyak dikaji. Pada penelitian ini target yang akan dicapai adalah diketahuinya kadar pada indicator fisiologis yakni *Superoxida dismutase* (SOD) dan *Malondealdehyde* (MDA). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan coba tikus Wistar yang dipapar uap hasil pembakaran E-Cigarette. Penelitian ini dirancang dengan desain “*the post test only control group design*” dengan sampel tikus jantan galur Wistar sebanyak 30 ekor berumur 2-3 bulan dengan berat 200-300 gram dan kondisi sehat. Sampel dibagi 5 kelompok, yakni kelompok control negative K(-) dan kelompok control positif K (+), serta tiga kelompok perlakuan yakni K1, K2 dan K3 masing masing dipapar dengan E- Cigarette dengan kandungan nikotin 3, 6, 9 mg. Paparan dilakukan selama 30 hari. Pada hari ke-31 dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar SOD dan MDA dilakukan di Laboratorium Gizi PAU UGM.

Kata kunci : E-Cigarette, SOD, MDA

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah dan rahmatNya sehingga kami telah selesai melaksanakan penelitian analisis kadar *superoksida dismutase* (SOD) dan *malondialdehyd* (MDA) pada tikus yang terpapar e- Cigarette, sehingga dapat menyusun laporan akhir :

Penelitian ini terlaksana berkat bantuan yang sangat berharga dari berbagai pihak, oleh karena itu peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitian ini
2. Ketua LP2M Unnes Semarang yang telah memberikan kesempatan dalam penelitian ini
3. Kepala Laboratorium Biologi FMIPA Unnes yang telah memberikan ijin dan banyak pengarahan
4. Mahasiswa tim payung, Izza, Mira dan Wildan yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian
5. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini sampai selesai pembuatan laporan kemajuan ini.

Kami menyadari bahwa pelaksanaan dan Laporan Akhir Penelitian ini masih banyak ditemui kelemahan, sehingga saran dan kritik yang membangun demi perbaikan penelitian ini sangat kami harapkan.

Semarang, Oktober 2019

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	14
BAB 4. METODE	15
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN LAMPIRAN .	
1. Instrumen penelitian.....	27
2. Personalia tim peneliti.....	32
3. Surat perjanjian penelitian.....	33
4. Artikel ilmiah.....	37
5. Dokumentasi.....	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1 Perbedaan kandungan rokok kretek dengan rokok elektrik.....	2
Tabel 2.1 Senyawa-senyawa yang terkandung dalam asap rokok.....	6
Tabel 2.2 Kandungan senyawa-senyawa dalam Rokok Elektrik.....	12
Tabel 2.3 Perbandingan kandungan rokok kretek non filter, kretek filter dan elektrik.....	14
Tabel 4.1 Pemberian perlakuan penelitian.....	23
Tabel 4.2 Alat-alat Penelitian.....	23
Tabel 4.3 Bahan-bahan Penelitian.....	24
Tabel 4.4 Prosedur pengukuran kadar MDA.....	26
Tabel 4.5 Prosedur pengukuran kadar SOD.....	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Seperangkat Rokok Elektrik beserta liquid	9
Gambar 2.2 Reaksi TBA (asam tiobarbiturat) dengan MDA.....	17
Gambar 4.1 Model perlakuan penelitian.....	25
Gambar 5.1 Berat badan tikus selama 30 hari.....	29
Gambar 5.2 Pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar MDA.	30
Gambar 5.3 Pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar	30
Gambar 6. Liquid Vape	45
Gambar 7. Proses pengasapan hewan coba.....	45

Gambar 8. Sampel darah dalam microtube	46
--	----

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Instrumen Penelitian.....	27
Lampiran 2. Personalia tim peneliti.....	32
Lampiran 3 Surat perjanjian penelitian	33
Lampiran 4. Artikel ilmiah	37
Lampiran 5. Dokumentasi	45

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rokok Elektrik merupakan rokok yang beroperasi menggunakan tenaga baterai yang berguna untuk membakar cairan sehingga menghasilkan uap. Dalam hal ini cairan yang dimaksud adalah nikotin, karena rokok elektrik juga mengandung nikotin seperti pada rokok konvensional. Nikotin termasuk zat adiktif, dalam hal ini nikotin dapat membuat pengguna menjadi ingin mengonsumsi terus menerus atau biasa disebut dengan kecanduan. Di dalam rokok elektrik mengandung propilen glikol, nikotin, gliserin, dan flavouring (perasa). Propilen glikol dan gliserin merupakan kelompok *formaldehyde*. *Formaldehyde* bila dipanaskan biasanya digunakan untuk keperluan medis seperti bahan pengawet mayat. Menurut National Institute on Drug Abuse (NIDA) (2018) dalam beberapa pengujian produk rokok elektrik terdapat uap yang berpotensi karsinogen dan diketahui terdapat pula bahan beracun kimia seperti *formaldehyde* dan *acetaldehyde*. Didalam rokok elektrik juga terdapat logam nanopartikel yang berpotensi beracun dari hasil mekanisme penguapan. Asap yang dihasilkan dari rokok elektrik ini dapat menyebabkan iritasi tekak dan mata, batuk, sakit kepala, pening dan susah bernapas.

Perbedaan kandungan utama atau secara umum antara rokok konvensional dengan rokok elektrik tersajikan dalam Tabel 1.1

Tabel 1.1 Perbedaan kandungan rokok kretek dengan rokok elektrik

Rokok Kretek	Rokok Elektrik
Tar	Propilen glikol
CO	Gliserin
Nikotin	Nikotin
Logam-logam berat	Flavouring (perasa)

Dari tabel diatas masih ditemukan nikotin dalam rokok elektrik. Nikotin adalah senyawa alkaloid yang terdapat pada daun tembakau disamping anabasin dan senyawa-senyawa alkaloid lainnya. Nikotin memiliki rumus kimia $C_{10}H_{14}N_2$ dengan berat molekul 162,23 gr/mol serta konsentrasi Nikotin biasanya sekitar 5% dari berat tembakau. Nikotin inilah yang membuat seseorang kecanduan merokok. Meskipun yang terkandung dalam satu batang rokok sekitar 10 mg, namun yang benar terserap ke dalam tubuh sebanyak 1–2 mg saja, sisanya terbuang ke udara (Aji *et al*, 2017).

Apabila rokok elektrik secara terus menerus dikonsumsi, uap yang dihasilkan menjadi CO berupa asap akan terakumulasi dalam tubuh sehingga lama-kelamaan pertahanan endogen di dalam tubuh tidak mampu mentoleransi adanya senyawa toksik yang masuk dalam tubuh, sehingga dapat menyebabkan stress oksidatif dalam tubuh. Radikal bebas bersifat sangat reaktif sehingga mudah bereaksi dengan senyawa lain seperti lipid, DNA dan protein. Oksidasi radikal bebas terhadap senyawa lipid, DNA, dan protein dapat menyebabkan kerusakan jaringan atau organ sehingga dapat menimbulkan penyakit. Pada keadaan ini, tubuh dapat mengalami stress oksidatif (Kapisa *et al*, 2013) *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah oksidan yang sangat reaktif. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut hingga ROS itu dihilangkan oleh ROS yang lain atau sistem antioksidan (Pillon & Soulage, 2012).

Aktivitas radikal bebas di dalam tubuh diimbangi dengan mekanisme pertahanan endogen, yaitu tubuh akan memproduksi antioksidan endogen yang mempunyai pengaruh sebagai anti radikal bebas. Salah satu antioksidan endogen adalah *superoxide dismutase* (SOD). Enzim Superoksida dismutase (SOD) berfungsi sebagai katalis reaksi dismutase radikal superoksida menjadi O_2 dan H_2O_2 yang lebih stabil. Pada saat level ROS meningkat melebihi kemampuan pertahanan endogen, maka terjadilah ketidakstabilan oksidatif yang disebut stress oksidatif. Pada kondisi stress oksidatif, radikal bebas akan menyebabkan peroksidasi lipid membran sel dan merusak organisasi membran sel. Salah satu biomarker terjadinya stress oksidatif adalah tingginya kadar *malondialdehyde* (MDA) dan menurunnya aktivitas SOD akibat proses peroksidasi lipid yang berlebihan di dalam sel (Moselhy *et al*, 2013).

Pada Penelitian sebelumnya yang dilakukan Erni (2016) menyebutkan bahwa paparan rokok konvensional dapat mempengaruhi stress oksidatif pada tubuh, salah satunya ditandai dengan biomarker dalam tubuh yaitu terjadi peningkatan kadar MDA dan SOD pada tubuh. Rokok elektrik tidak mengandung tembakau seperti pada rokok konvensional yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan sel-sel dalam tubuh yang disebut radikal bebas, namun masih ditemukan nikotin dalam rokok

elektrik. Hal ini membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai perubahan kadar MDA dan SOD pada tikus *Ratus norvegicus* yang diakibatkan oleh pengaruh nikotin dalam paparan rokok elektrik dalam hal ini menggunakan nikotin 3,6, dan 9 mg yang biasanya terjual bebas dipasaran.

BAB II

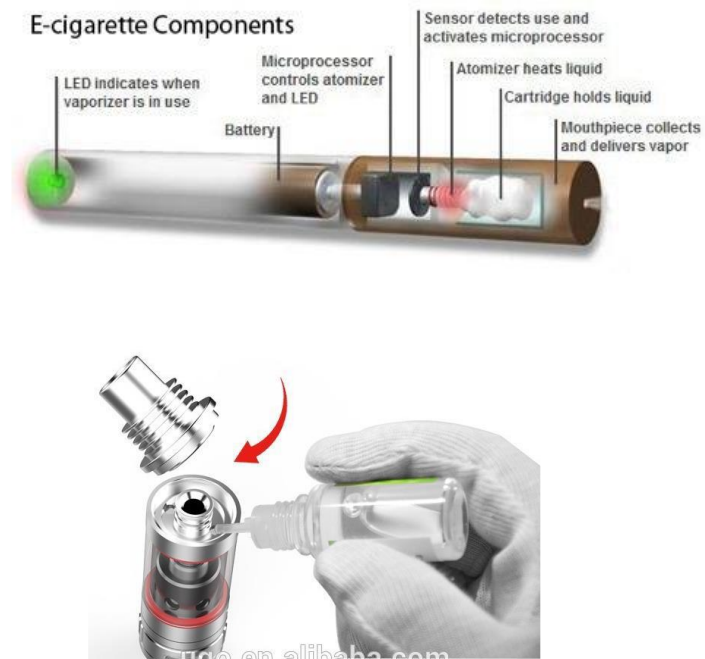
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rokok Elektrik (Vape)

Rokok elektrik merupakan salah satu NRT (*Nicotine Replacement Therapy*) yang menggunakan listrik dari tenaga baterai untuk memberikan nikotin dalam bentuk uap dan oleh WHO disebut sebagai *electronic nicotine delivery system* (ENDS) (William *et al*, 2010). NRT adalah metode yang menggunakan suatu media untuk memberikan nikotin yang diperlukan oleh perokok tanpa pembakaran tembakau yang merugikan.

Rokok elektrik diciptakan oleh salah satu perusahaan di Cina pada tahun 2003 dan dengan cepat menyebar ke seluruh dunia dengan berbagai nama dagang seperti njoy, epuffer, blu cig, green smoke, smoking everywhere, dan lain-lain. Terdapat penelitian yang menyatakan keamanan rokok elektrik tidak terjamin. Liquid rokok elektrik dan voltase pada baterai yang ada pada rokok elektrik memiliki komponen yang berbahaya. Dan akan semakin berbahaya yang memiliki tegangan yang tinggi. Hal ini dapat menimbulkan percikan api bahkan ledakan (Kosmider L *et al*, 2014).

Para pengguna rokok elektrik biasanya mengatur tegangan voltase pada baterai dengan tegangan tinggi sehingga dapat menghasilkan panas tegangan yang tinggi dan menghasilkan asap yang banyak pula. Diperkirakan bahwa suhu penguapan teoritis dapat mencapai 350°C (Talih *et al*, 2016). Suhu yang tinggi ini dapat mendorong perubahan fisik cairan rokok elektrik dan reaksi kimia antara konstituen dari cairan rokok elektrik. Pada suhu ini, pelarut dapat mengalami dekomposisi termal menyebabkan pembentukan senyawa yang berpotensi beracun. VG dan PG telah terbukti terurai pada suhu tinggi menghasilkan senyawa karbonil yang bersifat toksik, misalnya formaldehida, asetaldehida, akrolein, dan aseton.



Gambar 2.1 Seperangkat Rokok Elektrik beserta liquid (Orellana-Barrios *et al*, 2015)

Pada saat ini, terdapat lebih dari 460 nama dagang produk ENDS dengan lebih dari 7.700 rasa. Produk yang dapat diisi ulang dan dibuang merupakan generasi pertama electronic cigarette, sedangkan sistem tangki dan personal vaporizer merupakan generasi kedua dan ketiga electronic cigarette (Zhu, 2014). Rokok elektronik juga pernah digunakan sebagai alat bantu program berhenti merokok dengan cara mengurangi kadar nikotin secara bertahap namun praktek tersebut kini sudah tidak dianjurkan oleh ECA (Electronic Cigarette Association) dan FDA (Food and Drug Association) (Cobb *et al*, 2010). Meskipun demikian berdasarkan hasil survei di Amerika, mayoritas (65% responden) memilih alasan menggunakan rokok elektronik sebagai alternatif untuk berhenti merokok (Etter, 2010).

Maraknya pengguna rokok elektrik oleh masyarakat tanpa tersedianya data obyektif yang cukup membuat FDA di Amerika memprakarsai sebuah penelitian pada tahun 2009 tentang rokok elektrik. Penelitian tersebut menyatakan bahwa rokok elektronik mengandung Tobacco Specific Nitrosamin (TSNA) yang bersifat toksik dan Diethylene Glycol (DEG) yang dikenal sebagai karsinogen. Hal tersebut membuat FDA mengeluarkan peringatan kepada masyarakat tentang bahaya zat toksik dan karsinogen yang terkandung dalam rokok elektronik sehingga mengakibatkan pembatasan distribusi dan penjualan rokok elektronik di Amerika dan beberapa negara lain (USFDA, 2009). Badan Pengawas Obat dan Makanan memperingatkan masyarakat Indonesia bahwa rokok elektrik dapat lebih berbahaya dibandingkan dengan rokok konvensional dan keberadaan rokok elektronik di Indonesia merupakan ilegal (Bam dkk., 2014).

2.2 Kandungan Senyawa Kimia Rokok Elektrik

Rokok elektrik memiliki kandungan toksik dalam jumlah banyak. Di dalam rokok elektrik mengandung nikotin, propilen glikol, gliserin, dan flavouring (perasa) apabila dipanaskan akan menghasilkan uap yang terlihat seperti asap. Produk uap tersebut yang akan dihirup oleh pengguna, kemudian akan masuk kedalam aliran darah. Nikotin mempunyai efek ketergantungan bagi penggunanya. Pada rokok elektrik terdapat beberapa tingkatan kandungan nikotin yaitu 0 mg, 3 mg, 6 mg, 12 mg, dan 24 mg dalam 1 *refill*. Kandungan nikotin berwujud cair pada

rokok elektrik dapat di isi ulang. *Refill* tersebut dimasukkan apabila dalam proses pembakaran uap telah habis. (Kosmider *et al*, 2013 ; Cheng, 2014)

Propilen Glikol merupakan salah satu kandungan rokok elektrik berbentuk larutan. Zat ini. Propilen ini biasanya berfungsi sebagai pelarut. Larutan ini memiliki efek iritasi pada saluran pernapasan. Propilen glikol apabila kontak langsung dengan mata dan kulit akan mengakibatkan iritasi. Jika dilakukan konsumsi terus menerus memiliki jangka panjang yang akan mengalami kering mulut dan tenggorokan, bahkan bisa mempengaruhi sistem syaraf pusat. (Cheng, 2014)

Gliserin berbentuk kental dan memiliki rasa manis. Gliserin berbentuk kental dan memiliki rasa manis yang ada dalam rokok elektrik. Gliserin digunakan pada rokok elektrik memiliki kadar yang rendah. Produk Gliserin yang biasa digunakan pada rokok elektrik yaitu gliserin sayur atau gliserol merupakan produk karbohidrat yang berasal dari minyak nabati. Gliserin digunakan untuk campuran pada industri kosmetik dan penambah manis pada makanan. Gliserin jika dipanaskan dan diinhalasi akan menyebabkan iritasi pernapasan dan secara kronis dapat menyebabkan inflamasi saluran nafas atau obstruksi saluran nafas. (Cheng, 2014)

Flavouring (perasa) ada terdapat dalam larutan rokok elektrik berfungsi sebagai perasa bagi pengguna. Zat ini dapat mengeluarkan aroma, bau, dan cita rasa yang menarik bagi penggunanya. Salah satu bahan kimia yang dipakai sebagai tambahan perisa adalah diasetil. Menghirup diasetil kerap dikaitkan dengan penyakit paru obstruktif kronis (PPOK) (Lindsay, 2009)

Nikotin ($C_{10}H_{14}N_2$) merupakan senyawa organik alkaloid, yang umumnya terdiri dari karbon, hidrogen, nitrogen dan terkadang juga oksigen. Nikotin adalah senyawa alkaloid yang terdapat pada daun tembakau disamping anabasin dan senyawa-senyawa alkaloid lainnya. Rumus kimia Nikotin adalah $C_{10}H_{14}N_2$ dan mempunyai berat molekul 162,23 gr/mol. Konsentrasi Nikotin biasanya sekitar 5% dari berat tembakau. Setiap satu batang rokok biasanya mengandung 10 mg nikotin. Nikotin inilah yang membuat seseorang kecanduan merokok. Meskipun yang terkandung dalam satu batang rokok sekitar 10 mg, namun yang benar terserap ke dalam tubuh sebanyak 1–2 mg saja, sisanya terbang ke udara. (Aji et al, 2017)

Nikotin merupakan alkaloid utama dalam daun tembakau yang aktif sebagai insektisida dan kadar nikotin 2–8 % tergantung pada spesies tembakau. Nikotin merupakan salah satu obat-obatan yang sangat beracun bagi manusia. Dosis 60 mg akan menyebabkan kematian dalam beberapa menit, diperkirakan hanya 10% dari jumlah tersebut yang terhisap oleh perokok, dan dosis ini terserap kedalam tubuh dalam waktu yang sangat lama. Bahwa merokok tidak membahayakan secara langsung, disebabkan adanya kemampuan tubuh untuk mendegradasi atau metabolisme nikotin dengan cepat dan mengeluarkannya, sehingga mencegah penumpukan zat tersebut dalam tubuh. (Aji et al, 2017)

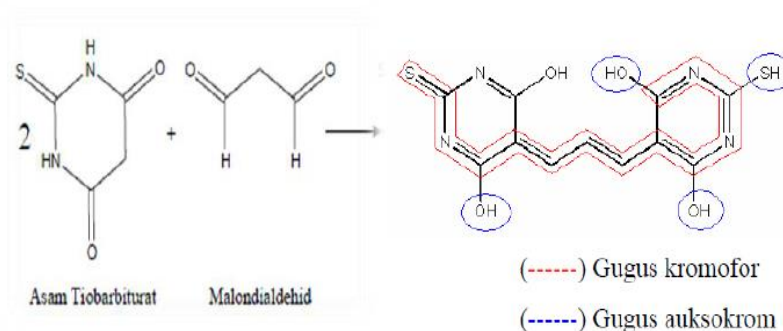
Efek nikotin dapat menimbulkan kecanduan dikarenakan adanya interaksi antara nikotin dengan reseptor kolinergik nikotin di otak yaitu *Nicotinic Acetylcholine Receptors* (nAChRs) di daerah mesolimbik dopamin system di *Ventral Tegmental Area* (VTA) neuron yang mengawali aktivasi *Central Nervus System* (CNS) termasuk *system Mesoaccumbens Dopamin*. Reseptor nikotinin mengatur pelepasan dopamin. Nikotin mengubah aktivitas VTA untuk meningkatkan sekresi dopamine. Dopamin yang dilepaskan berperan dalam pengontrolan fungsi aktivitas lokomotorik kognisi, emosi, reinsformenpositif, serta regulasi endokrin. Akibat dari pelepasan dopamine, maka akan timbul perasaan nyaman bagi perokok. (D'Souza *et al*, 2011 ; Gotti C *et al*, 2010)

MDA (*Malondialdehyde*)

MDA merupakan suatu biomarker yang dapat digunakan untuk mengetahui derajat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid hasil dari radikal bebas ini akan selalu membentuk reaksi berantai yang terus berlanjut sampai radikal bebas ini dihilangkan oleh radikal bebas lain dan oleh sistem antioksidan primer dari tubuh. Antioksidan bereaksi dengan antioksidan sehingga mengurangi kapasitas untuk menimbulkan kerusakan (Retno, 2012).

Mekanisme kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu malondialdehyde

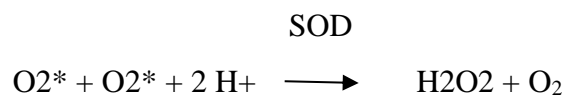
(MDA), yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan yang bersifat toksik terhadap sel. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stress oksidatif. Pengukuran ini dilakukan dengan tes *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS test). Prinsip pengukuran MDA terjadi karena adanya degradasi radikal lipid peroksidasi (aldehid dan endoperoksida) akan melakukan reaksi pertambahan nukleofilik (*nukleophilic addition reaction*) dengan asam tiobarbiturat dan membentuk suatu kompleks berwarna (senyawa MDA-TBA) yang berwarna merah jambu yang dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532-533 nm (Nazarudin *et al*, 2011). Oleh karena itu, salah satu tolak ukur yang menentukan seberapa banyak oksidan terbentuk didalam tubuh adalah dengan diketahuinya kadar MDA di dalam tubuh (Siswonoto, 2018). Adapun reaksi dalam pengukuran MDA ini adalah :



Gambar 2.3 Reaksi TBA (asam tiobarbiturat) dengan MDA (Malondialdehyde)
(Jamil, 2010 ; Mudasir, dkk. 2011)

SOD (*Superoksida dismutase*)

Superoksida dismutase adalah metalloenzim yang mengkatalis reaksi reduksi radikal anion superoksida (O_2^*) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Enzim ini bersifat tidak stabil terhadap panas, cukup stabil pada kondisi basa, dan masih mempunyai aktivitas walaupun disimpan sampai 5 tahun pada suhu $50^\circ C$. Aktivitas SOD tertinggi ditemukan di hati, kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium dan timus (Murray, 2009). Adapun reaksinya adalah



Superoxide Dismutase (SOD) merupakan salah satu antioksidan enzimatis dan metaloenzim dalam tubuh karena aktivitasnya tergantung pada kofaktor logam Cu, Fe, Zn dan Mn. Berdasarkan hal ini SOD dikelompokkan menjadi Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD dan ada juga namanya EC-SOD. Cu/Zn-SOD ditemukan dalam sitosol, kloroplas tanaman tingkat tinggi dan kemungkinan juga di ekstraseluler, Mn-SOD ditemukan dalam mitokondria sel eukariot dan peroksisom, Fe-SOD ditemukan berikatan dengan kloroplas, dan EC-SOD pada cairan ekstraseluler mamalia (Murray, 2009). Derajat aktivitas masing-masing SOD dipengaruhi oleh derajat stres oksidatif pada kompartemen subseluler. Kerja enzim SOD dapat dilihat pada banyaknya produk peroksidasi lipid dari setiap organel. Tingginya aktivitas SOD akan tergambarkan oleh rendahnya produk oksidasi lipid (Murray, 2009). SOD diidentifikasi sebagai eritrocuprein, indofenol oksidase, dan tetrazolium oksidase. Gen SOD terletak pada kromosom 21, 6 & 4, secara berurutan (21q22.1, 6q25.3 & 4p15.3-p15.1) dan berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutasi dari anion superoksida (O_2^*) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) & molekul oksigen (O_2) (Murray, 2009). Isoenzim EC-SOD merupakan glikoprotein yang terletak dalam matriks jaringan interstisial dan glikolik pada permukaan sel, berikatan dengan proteoglikan. Hanya ada 1 fraksi kecil EC-SOD yang ditemukan dalam cairan ekstrasel seperti plasma, limpa, cairan sinovial, dan cairan serebrospinal. Isoenzim EC-SOD merupakan homotetramer terglukolisasi, aktif dalam cairan dan matriks ekstraseluler seperti jantung, plasenta dan paru paru, mengendalikan bioavailabilitas nitrit oksida yang diinduksi oleh IFN, namun keberadaannya dapat dihambat oleh TNF dan TGF (Murray, 2009).

Secara fisiologis tubuh menghasilkan senyawa radikal bebas melalui proses fosforilasi oksidatif. Selama proses fosforilasi oksidatif, O_2 akan tereduksi menjadi H_2O dengan penambahan 4 elektron, sehingga terbentuk radikal anion superoksida yang kemudian diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim SOD. Proses fosforilasi dalam mitokondria menyebabkan 1 molekul O_2 tereduksi oleh 4 elektron

bersama-sama dengan ion H^+ membentuk 2 molekul H_2O . Jika jumlah elektron yang mereduksi O_2 kurang dari 4, proses fosforilasi berlangsung tidak sempurna sehingga akan terbentuk senyawa radikal bebas (Murray, 2009). Kelainan Fungsi EC-SOD adalah Aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penyebab utama penyakit jantung dan pembuluh darah lainnya yang ditandai ateroma (plak kekuningan) yang mengandung lipid dan kolesterol pada dinding arteri dan terjadi pengerasan dinding arteri serta penyempitan lumen arteri (Murray, 2009 ; Grasi, 2010). Aterosklerosis dapat terjadi melalui proses inflamasi kronik dan stress oksidatif. Pada dinding pembuluh darah arteri terdapat sel endotel yang melepaskan nitric oxide dan mengatur kelenturan pembuluh darah, menjaga komposisi otot tetap seimbang, dan mencegah pembekuan darah sehingga tidak terjadi inflamasi dan stress oksidatif (Grasi, 2010). Kelainan fungsi SOD dan peningkatan jumlah radikal bebas yang terjadi pada penderita aterosklerosis adalah terjadinya kerusakan atau disfungsi endotel pada pembuluh darah. Disfungsi endotel pada aterosklerosis terjadi secara bertahap, yaitu pada dekade pertama (awal terjadinya akumulasi lipid di intraseluler), dekade ketiga (terjadi atheroma), dan dekade keempat (terjadinya fibroatheroma dan komplikasi pada sel endotel). Jika sel endotel mengalami kerusakan, maka nitric oxide berkurang, sistim keseimbangan dinding pembuluh darah akan terganggu dan terjadi penebalan otot dinding pembuluh darah sehingga makrofag, trombosit, LDL kolesterol yang teroksidasi akan membentuk suatu kompleks yang disebut fatty streak dan plak aterosklerosis. Proses pembentukan aterosklerosis secara teori inflamasi dan stress oksidatif dapat dicegah, yaitu terapi antioksidan dengan cara pemberian suplemen antioksidan secara oral (Grasi, 2010).

Prinsip pemeriksaan kadar SOD adalah sebagai berikut. Reaksi antara *xanthine* dan *xanthine oxidase* menghasilkan radikal superoksida. Radikal superoksida akan mereduksi *nitroblue tetrazolium* (NBT) menjadi formazan berwarna ungu. SOD dapat menghambat reduksi NBT melalui reaksinya dengan radikal superoksida yang menghasilkan O_2 dan H_2O . Pengukuran dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer. Pengukuran kadar SOD dilakukan secara tidak langsung, karena yang diukur dengan spektrofotometer adalah absorbansi formazan.

Kemudian ditentukan konsentrasi SOD dengan menggunakan kurva standar SOD. (Kusumaningrum *et al*, 2017)

Pengaruh Radikal Bebas Terhadap kadar MDA dan SOD

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus (Wadaningsih *et al*, 2011). Mekanisme terbentuknya reaksi radikal bebas adalah peroksidasi lipid membran dan sitosol yang mengakibatkan terjadinya serangkaian reduksi asam lemak sehingga terjadi kerusakan membran dan organel sel. Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang memberikan pasokan radikal bebas secara terus-menerus yang menginisiasi peroksidasi lebih lanjut. tahapan reaksi sel oleh radikal bebas adalah inisiasi (permulaan terbentuknya radikal bebas), propagasi (serangkaian reaksi yang berkembang atas timbulnya radikal bebas transfer atau penambahan atom, dan terminasi (inaktivasi radikal bebas oleh antioksidan endogen atau eksogen maupun enzim superoksida dismutase). Pengukuran tingkat peroksidasi lipid dapat diukur dengan produk akhirnya, yaitu *Malondialdehyde* (MDA). Untuk mengurangi terjadinya peroksidasi lipid dapat digunakan senyawa yang bersifat antioksidan.

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang berfungsi sebagai penangkal dari radikal bebas dan dampak negative dari radikal bebas. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas terutama terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan (Wahdaningsih *et al*, 2011). Salah satu pertahanan endogen yang bersifat protektif terhadap radikal bebas adalah enzim SOD. Ketika produksi spesies oksigen yang disebabkan radikal bebas meningkat dan kadar antioksidan menurun hingga keseimbangan pertahanan endogen terganggu, maka tubuh akan mengalami stres oksidatif. Stress oksidatif dalam tubuh dapat menyebabkan meningkatnya kadar MDA dan menurunnya kadar SOD. Ketika pertahanan endogen

dalam tubuh terganggu maka tubuh memerlukan pasokan antioksidan dari luar seperti vitamin C, vitamin E yang dapat terkandung dalam buah-buahan atau sayuran.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan data tentang perubahan antioksidan enzimatis akibat paparan uap vape. Parameter perubahan antioksidan enzimatis dengan menghitung kadar MDA dan SOD pada darah tikus.

.

B. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah mendapatkan data tentang kadar MDA dan SOD setelah dipapar uap vape. Dengan dilaksanakannya penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai berikut :

1. Memberikan informasi tentang efek penggunaan rokok elektrik sebagai pengganti rokok konvensional terhadap struktur organ paru.
2. Sebagai data dalam penelitian lanjutan yang berkaitan dengan efek paparan asap vape pada fungsi fisiologis pada tikus.

BAB IV

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan secara *in vivo*. Penelitian dirancang dengan “*randomized post-test control group*” dengan subyek penelitian tikus putih galur Wistar, berumur 2-3 bulan dengan berat 200-300 gram sejumlah 30 ekor dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 6 ekor. Tikus yang digunakan sampel dalam kondisi sehat.

Jumlah sampel ditentukan dengan rumus berikut: rumus Federer sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) > 15$$

n : besar sampel

t : jumlah kelompok

Jumlah sampel yang digunakan dihitung dengan rumus:

$$(n-1)(t-1) > 15$$

$$(n-1)(3-1) > 15$$

$$4n-2 > 15$$

$$4n > 17$$

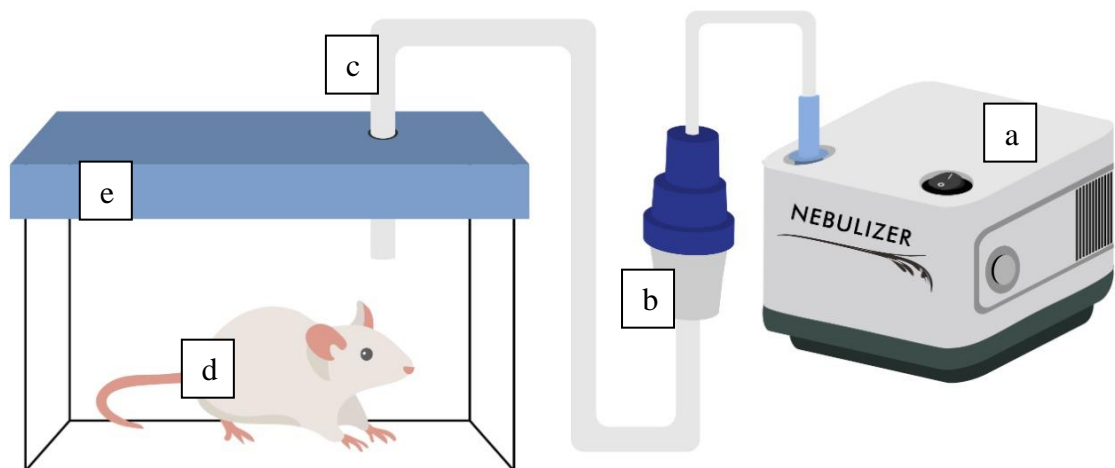
$$n > 4,25$$

Pada penelitian tikus dibagi 5 kelompok secara random yang terdiri atas kelompok kontrol negatif (K-), kelompok control positif (K+) dengan treatment rokok konvensional, dan kelompok perlakuan 1 (KP1), dengan treatment rokok elektrik dengan kandungan nikotin 3mg. Kelompok perlakuan 2 (KP2) dengan treatment rokok elektrik dengan kandungan nikotin 6mg dan KP3 dan Kelompok perlakuan 3 (KP3) dengan kandungan nikotin 9 mg. Pada setiap kelompok diberi pakan standar ayam BR2 dan minum secara *ad libitum*. Pemberian treatment dilakukan dengan memaparkan asap rokok tembakau pada kelompok 2 dan uap hasil pembakaran liquid Vape pada kelompok 3,4 dan 5 dengan kadar nikotin 3,6 dan 9 mg, pemaparan dilakukan selama 30 hari. Pemberian treatment dilakukan di kandang pemeliharaan hewan coba di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang. Analisis MDA dan SOD dilakukan di laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Pemberian perlakuan seperti dalam table di bawah ini

Tabel 4.1 Pemberian perlakuan penelitian

Kelompok/Jumlah Tikus	Treatment	Keterangan
K-/(6)	-	MDA dan SOD pada darah
K+/(6)	3 batang rokok kretek (merk Dji Sam Soe)	MDA dan SOD pada darah
P1/(6)	0,25 ml nikotin dalam rokok elektrik dengan kadar nikotin 3 mg/hari	MDA dan SOD pada darah
P2/(6)	0,50 ml nikotin dalam rokok elektrik dengan kadar nikotin 6 mg/hari	MDA dan SOD pada darah
P3/(6)	0,75 ml nikotin dalam rokok elektrik dengan kadar nikotin 9 mg/hari	MDA dan SOD pada darah

Berikut gambar model perlakuan penelitian yang akan dilakukan :



Gambar 4.2 Model perlakuan penelitian

Keterangan :

- Alat Nebulizer (spesifikasi lampiran 6)
- Tempat liquid/cairan nikotin
- Selang sebagai jalan keluar uap nikotin ke dalam kandang tikus yang tertutup
- Hewan perlakuan tikus *Rattus Norvegicus*
- Kandang tikus yang tertutup rapat

Pengambilan darah

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 31 penelitian. Darah diambil dari *sinus orbitalis* dengan hematokrit sebanyak 3 ml dan ditampung dalam *microtube* yang telah berisi EDTA untuk sampel plasma dan *microtube* kosong tanpa EDTA untuk serum. Sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar MDA adalah plasma darah dan untuk pengukuran aktivitas SOD adalah serum. Darah yang terkumpul ditunggu sampai 30 menit selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 100 rpm selama 10 menit. Plasma dan serum yang terbentuk dipindah ke dalam *microtube* baru dan disimpan pada *ice box* untuk siap dibawa ke tempat analisis. Setelah ditempat analisis larutan penyangga yang terbentuk dihilangkan dari pellet 5x volumenya dengan menggunakan ddH₂O (*double-distilled water*). Eritrosit yang telah dilarutkan disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 10000 rpm dan supernatant yang terbentuk disimpan pada suhu -8°C sampai siap untuk dianalisis.

Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA menggunakan metode TBARs (Wursyastuti *et al*, 1996 (Indonesian Food and Nutrition Progress, 2000 vol 7 no.2)

Tabel 4.3 Prosedur pengukuran kadar MDA

	Sampel	Standart	Blangko
H ₃ PO ₄	750µl	750µl	750µl
TBA	250µl	250µl	250µl
Sampel	50µl		
Standart		50µl	
aquabides			50µl
Aquabides	450µl	450µl	450µl

Semua larutan diatas dicampur, dimasukkan ke penangas air dengan suhu 100°C selama 60 menit. Setelah sampel, standart, dan blangko keluar dari penangas air kemudian dimasukkan ke dalam es bath. Selanjutnya disiapkan Column Sep-Pak C₁₈ dan dimasukkan methanol 5 ml lalu dibuang. Aquabides 5 ml dimasukkan lalu dibuang. sampel 5 ml dimasukkan lalu dibuang. Aquabides 4

ml dimasukkan lalu dibuang. Methanol 4 ml dimasukkan lalu ditampung. Kemudian dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

Rumus penghitungan kadar MDA (nmol/ml) :

$$\frac{0,2422 + \text{absorbansi total}}{0,0241}$$

Pengukuran Kadar SOD

Pemeriksaan aktivitas SOD dilakukan menggunakan metode kalorimetri.

Sampel yang digunakan dalam pengukuran ini adalah serum. Prosedur pengukuran aktivitas SOD dapat dilihat pada tabel.

Tabel 4.4 Prosedur pengukuran kadar SOD

	Sampel	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3
<i>Whole blood</i>	20 µl	-	20 µl	-
ddH ₂ O	-	20 µl	-	20 µl
Larutan pereaksi WST (<i>Water-Soluble Tetrazolium</i>)	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
Larutan pengencer buffer	-	-	20 µl	20 µl
Larutan pereaksi enzim	20 µl	20 µl	-	-

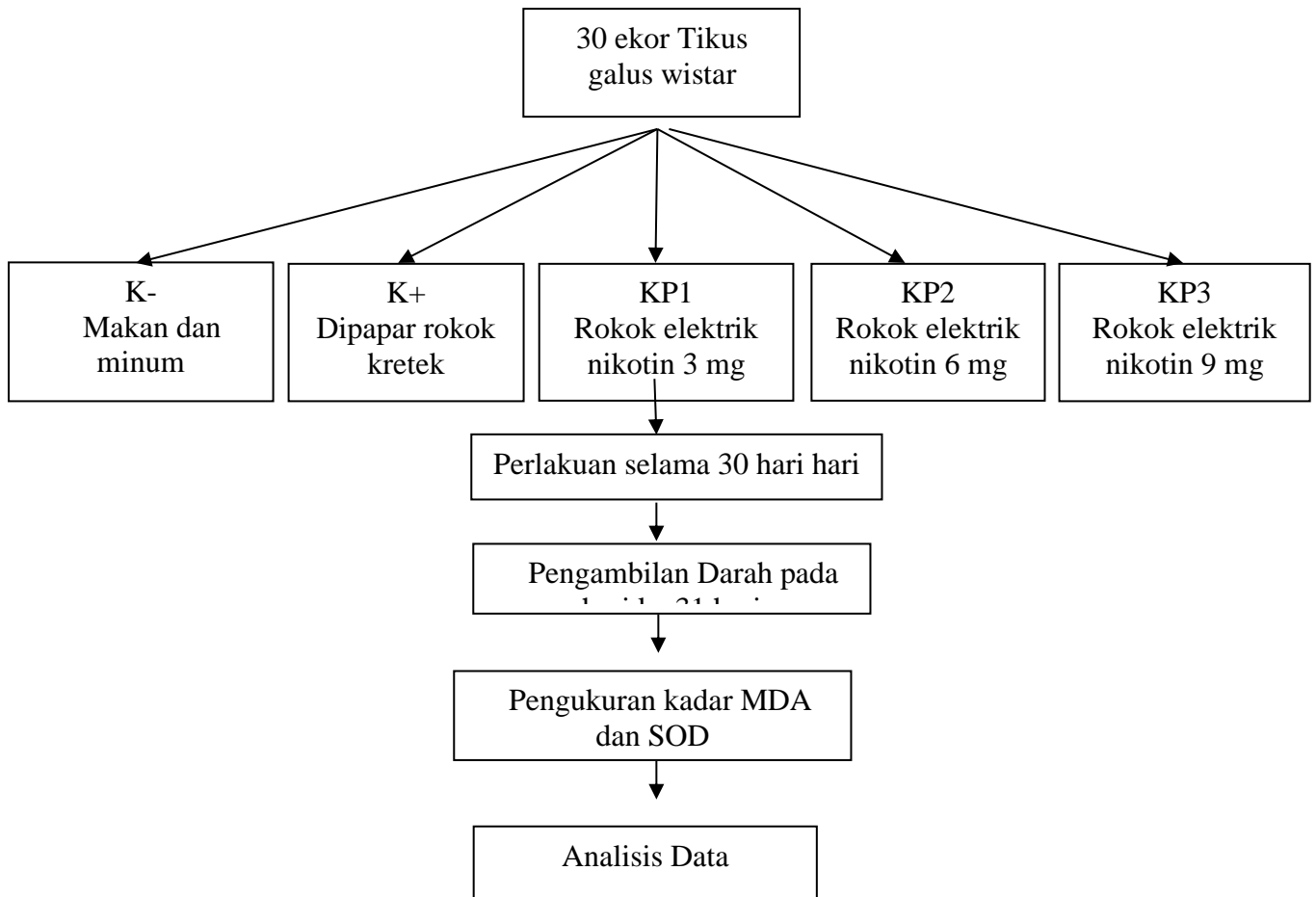
Semua larutan dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 20 menit, selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*.

Rumus penghitungan aktivitas SOD (%) :

$$\frac{(A_{\text{blanko1}} - A_{\text{blanko3}}) - (A_{\text{sampel}} - A_{\text{blanko2}})}{(A_{\text{blanko1}} - A_{\text{blanko3}})} \times 100\%$$

Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini meliputi uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov test dilanjutkan uji homogenitas dengan uji Levene test. Untuk mengetahui perbedaan rata-rata antara kelompok dilakukan uji komparasi pada MDA menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Man Whitney dan untuk SOD menggunakan uji one way anova dan dilanjutkan dengan Uji LSD

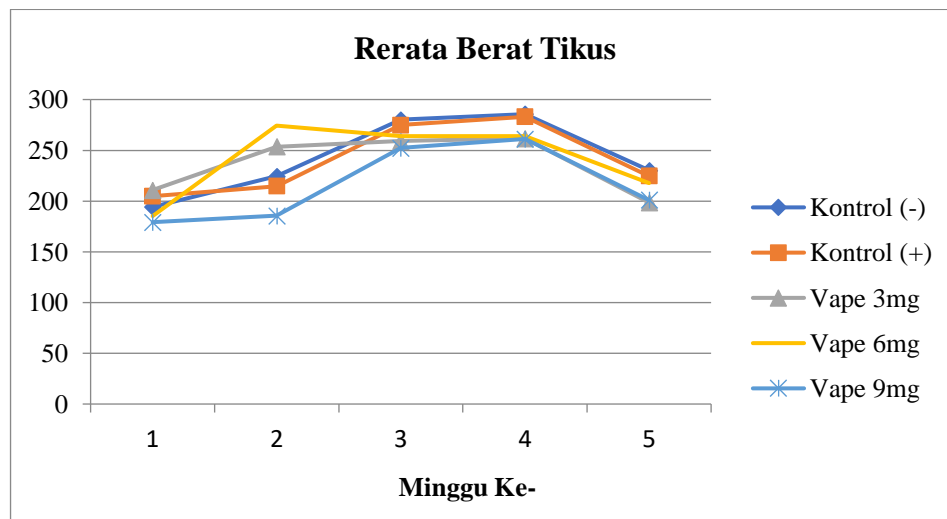
Alur Penelitian

Gambar 4.5 Alur penelitian pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar MDA dan SOD pada darah tikus.

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium Biologi FMIPA UNNES dan Laboratorium Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada selama bulan Juli-Agustus 2018. Menggunakan hewan coba berupa Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan usia 2-3 bulan dengan rata-rata berat selama 30 hari penelitian yang tersajikan dalam gambar 5.1

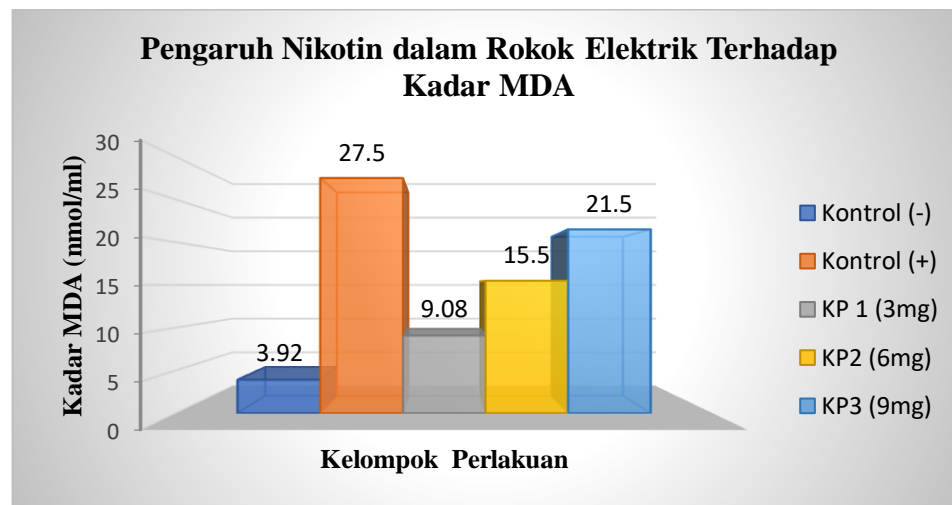


Gambar 5.1 Berat badan tikus selama 30 hari

Dari hasil data diatas berat badan tikus mengalami penurunan dari minggu ke-4 ke minggu terakhir penelitian. Dalam penelitian ini dihasilkan 2 hasil kadar MDA dan SOD yang telah terpapar rokok elektrik.

5.2. Hasil Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA menggunakan metode TBARs dengan menggunakan plasma darah yang diambil melalui sinus orbitalis tikus *Rattus novergicus*. Kemudian dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm. Adapun hasil uji lanjut kadar MDA adalah sebagai berikut:

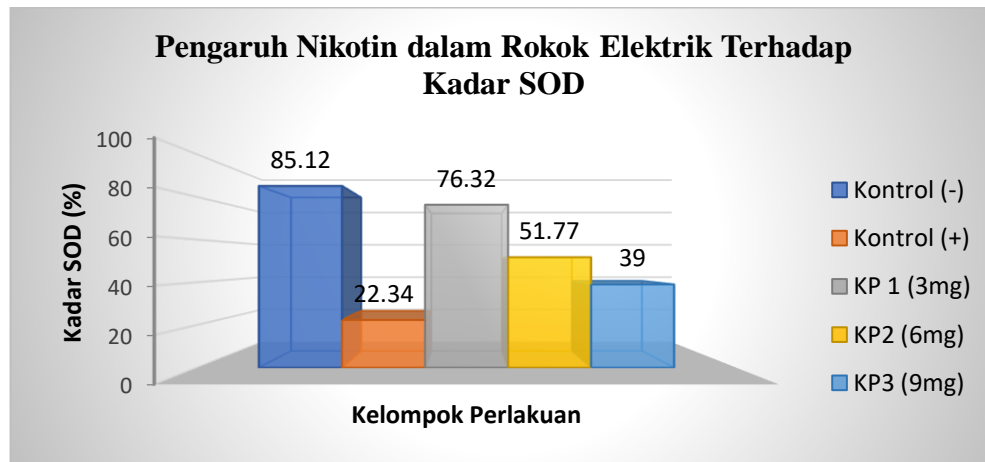


Gambar 5.2 Pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar MDA

Dari hasil penelitian menunjukkan kadar MDA berdistribusi normal, namun pada hasil uji homogenitas data MDA tidak homogen hal ini disebabkan setiap angka yang dihasilkan pada setiap kelompok terpaut jauh sehingga digunakan uji non parametrik menggunakan uji Kruskal wallis dilanjutkan dengan Mann-Whitney. Hasil Uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar nikotin maka semakin terjadi peningkatan kadar MDA.

5.3. Hasil Pengukuran Kadar SOD

Pengukuran kadar SOD menggunakan metode kalorimetri, menggunakan serum darah yang diambil melalui *sinus orbitalis* pada tikus *Rattus novergicus*. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*. Adapun hasil data uji lanjut SOD adalah sebagai berikut:



Gambar 5.3 Pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar

Hasil data penelitian kadar SOD menunjukkan bahwa data kadar SOD terdistribusi normal, dan untuk hasil uji homogenitas data kadar SOD menunjukkan data yang homogen sehingga dapat digunakan uji one way anova dan dilanjutkan uji LSD. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar nikotin maka semakin terjadi penurunan kadar SOD.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa paparan rokok elektrik (VAPE) dapat meningkatkan kadar MDA dan menurunkan kadar SOD darah tikus.

Saran

Saran dari penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaturan kerentangan kadar nikotin sehingga dihasilkan kadar nikotin minimal dan maksimal yang berpengaruh pada peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD pada darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, A., Maulinda, L., & Amin, S. (2017). Isolasi Nikotin dari Puntung Rokok sebagai Insektis. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(1), 100-120. Bam TS., Bollow W., Berezhnova I., Jackson-Morris A., Jones A., dan Latif E. (2014). Position statement on electronic cigarette or electronic nicotine delivery systems. *Int J Tuberc Lung Dis*. 18 (1): 5–7.
- American Industrial Hygiene Association (AIHA) 2014, *White Paper: Electronic Cigarettes in the Indoor Environment*
- Botham, Kathleen M & Mayes, Peter A. (2009). Cholesterol Syntesis, Transport & Excretion. In: Harper's illustrated Biochemistry .28thEd. USA: LANGE Mc Graw Hill. chapter 26. p 224-233.
- Cheng T. (2014). Chemical evaluation of electronic cigarettes. *Tob Control*. 23:11-7.
- D'Souza MS, Markou A. (2011). Neuronal Mechanisms Underlying Development of Nicotine Dependence: Implications for Novel Smoking-Cessation Treatments. *Addict Sci Clin Pract*. Jul; 6(1): 4–16
- Gotti, C., Guiducci, S., Tedesco, V., Corbioli, S., Zanetti, L., Moretti, M., & Chiamulera, C. (2010). Nicotinic acetylcholine receptors in the mesolimbic pathway: primary role of ventral tegmental area $\alpha 6\beta 2^*$ receptors in mediating systemic nicotine effects on dopamine release, locomotion, and reinforcement. *Journal of Neuroscience*, 30(15), 5311-5325.
- Jamil, D.O., (2010). Pelacakan Aktivitas Antikanker terhadap Tiga Senyawa Santon Terpenilasi dari Spesies *Garcini*. (Skripsi). Jurusan Kimia FMIPA ITS Surabaya.
- Kapisa OC, Permatasari N, Wahyu T, Nugrahenny D, Widodo MA. (2013). Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Paru Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) pada Berbagai Macam Lama Waktu Paparan Asap Kendaraan Bermotor.
- Karia RM, Pradnya A, Gokhale, Hemant B, Metha. 2012. Comparative Study of Spirometric Parameters Between Active Tobacco Smokers and Tobacco Non Smokers. *IOSR Journal of Pharmacy*. Vol. 2 (No. 2): hal 222-224.
- Kosmider, L., Sobczak, A., Fik, M., Knysak, J., Zaciera, M., Kurek, J., & Goniewicz, M. L. (2014). Carbonyl compounds in electronic cigarette

- vapors: effects of nicotine solvent and battery output voltage. *Nicotine & Tobacco Research*, 16(10), 1319-1326.
- Kovacic P, Cooksy A. 2005. Iminium metabolite mechanism for nicotine toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses*. 64: 104–111.
- Lindsay JC. (2009). Technical review and analysis of FDA Report:“Evaluation of E-cigarettes”. Houston, TX, USA: Exponent Health Sciences.
- Lisdiana, Nugrahaning WH, Priyantini W, 2017. The Effect of Rambutan Peel Extract (*Nephelium lappaceum* L) to Total Leukocytes and Histopathological of Rat Lungs Exposed By Cigarette smoke. *Sainteknologi, jurnal Sain dan Teknologi*. 15: 181-192
- Lisdiana, Nugrahaning WH, Priyantini W, Ely Rudiatmi. 2017. Analisis Histopatologi Paru Akibat Paparan Rokok Elektrik (*Electronic Nicotine Delivery System* Ends) Pada Tikus. 2017. Laporan penelitian DIPA Fakultas
- Mc. Cord J.M., Fridovich I. (2006). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J.Biol Chem*.244(22):6049-55.
- Michael KF., Thoomas DF., Margaret R., Laura DL., Blake T., Alexandra W., Ella S., Sarah W., Alan DL., Christopher JLM., Emmanuela G. 2014. Smoking Prevalence and Cigarette Consumption in 187 Countries, 1980-2012. *JAMA*. Vol.311 (No. 2): hal 183-192.
- Moselhy HF, Reid RG, Yousef S, Boyle Sp. (2013). A specific, accurate, and sensitive measure of total plasma malondialdehyde by HPLC. *Journal of lipid research* 54(3):852-858.
- Mudasir, A. Azis, A., Punagi, Q. (2011). Analisis Kadar MDA Plasma Penderita Polip Hidung Berdasarkan Dominasi Sel Inflamasi Pada Pemeriksaan Histopatologi. *Bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok – Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar*.
- Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W., (2009). *Biokimia Harper*, (Andri Hartono). Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.
- Pillon, N. J., & Soulage, C. O. (2012). Lipid peroxidation by-products and the metabolic syndrome. In *Lipid Peroxidation*. InTech.
- Retno, T., Widyastuti, S., & Suarsana, N. 2012. Pengaruh pemberian isoflavan terhadap peroksidasi lipid pada hati tikus normal. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(4), 483-91.

- Russell R. E. K., Thorley A, Culpitt Sv, Dodd S, Donnelly L E, Demattos C, Fitzgerald M, Barnes P J. 2002. Alveolarmacrophage-mediatedelastolysis: rolesofmatrixmetallo proteinases, cysteine, and serine proteases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 83: L867–L873.
- Suwardi H, FXXK Aditia, & L Wijaya. 2011. Peran nikotin rokok pada patogenesis psoriasis. *Journal of medicine*. 10 (2):86-90.
- Triana, Nanin. Gambaran Histologi Pulmo Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) Setelah Dipapari Asap Rokok Elektrik. Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara, Medan;2014
- UCSF TCORS & California Poison Control System, 2015, *Nicotine Exposure Warnings and Child-Resistant Packaging for Liquid Nicotine, Nicotine-Containing E-Liquid(s), and Other Tobacco Products*.
- Widodo E., Bambang PP., Sri E., Dewi RA., Robert U. 2007. Effect of clove cigarette expoxure on white rat: special emphasis on the histopathology of respiratory tract. *Med J Indones*. Vol. 16 (No. 4) hal 213.
- World Health Organisation, 2014, *Electronic nicotine delivery systems*. FCTC/COP/6/10 rev.1. Paper for Conference of the Parties to the WHO Framework Convention of Tobacco Control, Sixth Session 13-18 October 2014.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Instrumen penelitian

1. Judul : Analisis Kadar Superoksida Dismutase (SOD) dan Malondialdehyd (MDA) pada Tikus yang Terpapar E- Cigarette

2. Tujuan Penelitian:

Tujuan dari penelitian ini untuk

1. menganalisis kadar *Superoksida Dismutase* (SOD) pada tikus yang dipapar E-Cigarette
2. menganalisis kadar *Malondialdehyd* (MDA) pada tikus yang dipapar E-Cigarette

3. Design Penelitian

Design Penelitian : True eksperiment dengan *Randomized Posttest Only With Control Group Design* dengan rancangan sebagai berikut :

Kelompok/Jumlah Tikus	Treatment	Keterangan
K-/(6)	-	MDA dan SOD pada darah
K+/(6)	3 batang rokok konvensional	MDA dan SOD pada darah
KP1/(6)	5 ml Vape(1) dengan kadar nikotin 3 mg/hari	MDA dan SOD pada darah
KP2/(6)	5 ml Vape(2) dengan kadar nikotin 6 mg/hari	MDA dan SOD pada darah
KP3/(6)	5 ml Vape(3) dengan kadar nikotin 9 mg/hari	MDA dan SOD pada darah

4. Variabel Penelitian

1. Variabel independent :

- 1) Paparan E-cigarette dengan 3 variasi kadar nikotin yakni 3,6 dan 9 mg/hari
- 2) Paparan rokok tembakau/rokok konvensional dengan dosis 3 batang/hari.

2. Variabel dependent

- 1) Kadar *malondialdehyde* (MDA) dalam darah tikus
- 2) Kadar *superoksigen dismutase* (SOD) dalam darah tikus

3. Variabel kontrol

Jenis rokok, umur tikus, *strain*, suhu ruang, pakan tikus, bentuk dan ukuran kandang.

5. Pengambilan darah

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 31 penelitian. Darah diambil dari *sinus orbitalis* dengan hematokrit sebanyak 3 ml dan ditampung dalam tamping eppendorf yang telah berisi EDTA. Sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar MDA adalah plasma darah dan untuk pengukuran aktivitas SOD adalah *whole blood*. Darah yang terkumpul selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 100rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. plasma yang terbentuk dipindah ke dalam tabung baru dan disimpan pada suhu -80°C sampai siap untuk dianalisis. Larutan penyangga yang terbentuk dihilangkan dari pellet 5x volumenya dengan menggunakan ddH₂O (*double-distilled water*). Eritrosit yang telah dilarutkan disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 10000 rpm dan supernatant yang terbentuk disimpan pada suhu -8°C sampai siap untuk dianalisis.

6. Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA menggunakan metode : TBARs (Wursyastuti *et al*, 1996 (Indonesian Food and Nutrition Progress, 2000 vol 7 no.2)

	Sampel	Standart	Blangko
H ₃ PO ₄	750µl	750µl	750µl
TBA	250µl	250µl	250µl
Sampel	50µl		
Standart		50µl	
aquabides			50µl
Aquabides	450µl	450µl	450µl

Semua larutan diatas dicampur, dimasukkan ke penangas air dengan suhu 100°C selama 60 menit. Setelah sampel, standart, dan blangko keluar dari penangas air kemudian dimasukkan ke dalam es bath. Selanjutnya disiapkan Column Sep-Pak C₁₈ dan dimasukkan methanol 5 ml lalu dibuang. Aquabides 5 ml dimasukkan lalu dibuang. sampel 5 ml dimasukkan lalu dibuang. Aquabides 4 ml dimasukkan lalu dibuang. Methanol 4 ml dimasukkan lalu ditampung. Kemudian dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

Rumus penghitungan kadar MDA (nmol/ml) :

$$\frac{0,2422 + \text{absorbansi total}}{0,0241}$$

7. Pengukuran Kadar SOD

Pemeriksaan aktivitas SOD dilakukan menggunakan metode kalorimetri.

Sampel yang digunakan dalam pengukuran ini adalah *whole blood*.

Prosedur pengukuran aktivitas SOD dapat dilihat pada tabel.

	Sampel	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3
<i>Whole blood</i>	20 µl	-	20 µl	-
ddH ₂ O	-	20 µl	-	20 µl
Larutan pereaksi WST (<i>Water-Soluble Tetrazolium</i>)	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
Larutan pengencer buffer	-	-	20 µl	20 µl
Larutan pereaksi enzim	20 µl	20 µl	-	-

Semua larutan dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit, selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*.

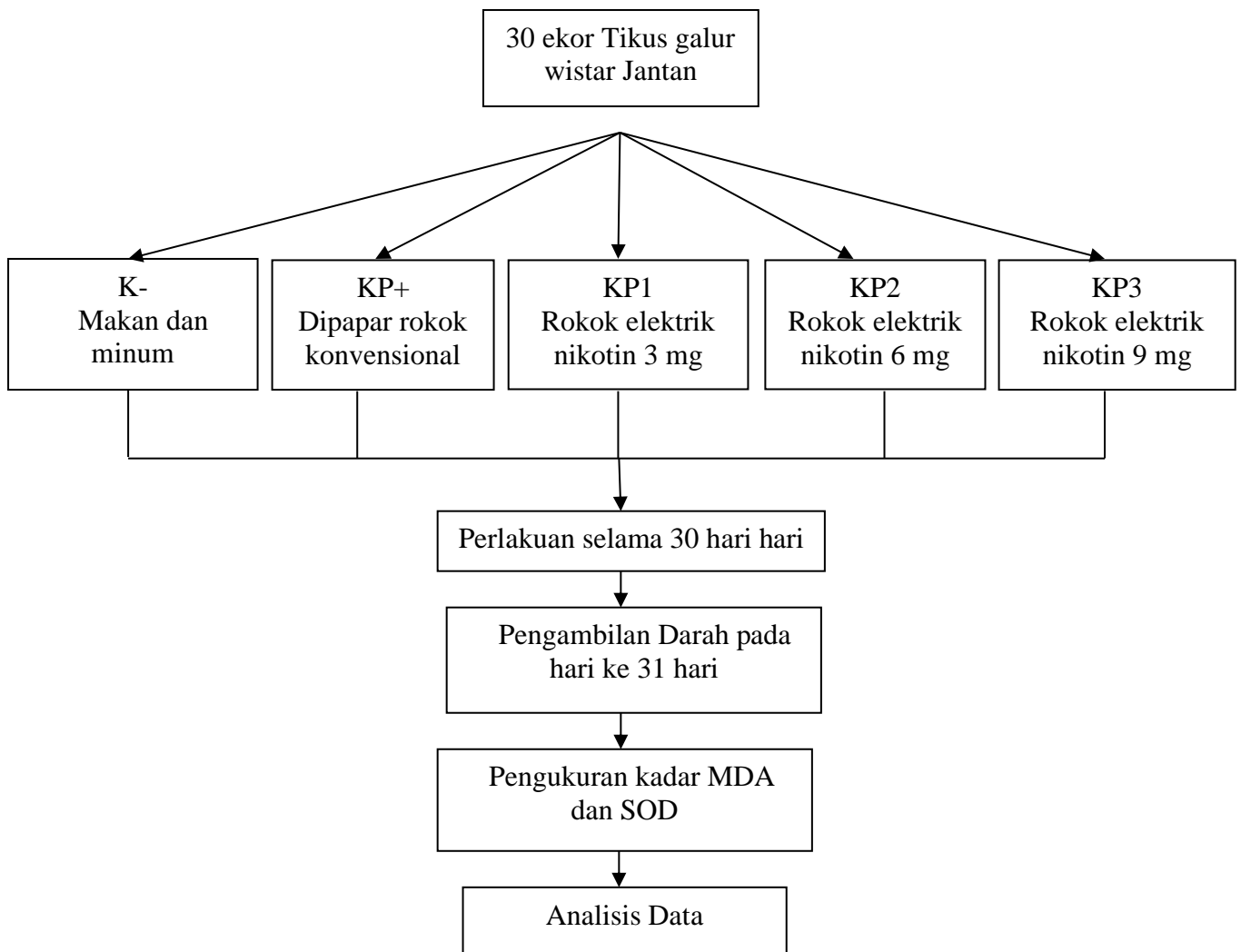
Rumus penghitungan aktivitas SOD (**Analisis Data**)

$$\frac{(A_{blanko1} - A_{blanko3}) - (A_{sampel} - A_{blanko2})}{(A_{blanko1} - A_{blanko3})} \times 100\%$$

8. Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini meliputi uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov test dilanjutkan uji homogenitas dengan uji Levene test. Untuk mengetahui perbedaan rata-rata antara kelompok dilakukan uji komparasi menggunakan uji one way anova dan dilanjutkan dengan Uji Least Significant Difference (LSD).

Alur Penelitian



9. Design Penelitian

Design Penelitian : True eksperiment dengan *Randomized Posttest Only With Control Group Design* dengan rancangan sebagai berikut :

Kelompok/Jumlah Tikus	Treatment	Keterangan
K-/(6)	-	MDA dan SOD pada darah
K+/(6)	3 batang rokok konvensional	MDA dan SOD pada darah
KP1/(6)	5 ml Vape(1) dengan kadar nikotin 3 mg/hari	MDA dan SOD pada darah
KP2/(6)	5 ml Vape(2) dengan kadar nikotin 6 mg/hari	MDA dan SOD pada darah
KP3/(6)	5 ml Vape(3) dengan kadar nikotin 9 mg/hari	MDA dan SOD pada darah

10. Variabel Penelitian

4. Variabel independent :

- 3) Paparan E-cigarette dengan 3 variasi kadar nikotin yakni 3,6 dan 9 mg/hari
- 4) Paparan rokok tembakau/ rokok konvensional dengan dosis 3 batang/hari.

5. Variabel dependent

- 3) Kadar *malondialdehyde* (MDA) dalam darah tikus
- 4) Kadar *superoksigen dismutase* (SOD) dalam darah tikus


6. Variabel kontrol

Jenis rokok, umur tikus, *strain*, suhu ruang, pakan tikus, bentuk dan ukuran kandang.

Lampiran 2. Personalia tim peneliti

No	Nama/NIP	Prodi/ Fakultas	Bidang Ilmu	Alokasi Waktu (Jam/minggu)	Uraian Tugas
1	Dr. Lisdiana, M.Si. NIDN 0019115914	Biologi/ MIPA	Biologi/Struktur dan perkembangan Hewan	6 jam/ minggu	<ol style="list-style-type: none"> 1. mengembangkan konsep dasar penelitian 2. memberi arahan kegiatan penelitian 3. pelaksana penelitian mulai analisis kebutuhan sampai dengan validasi/implementasi program 4. menganalisis data 5. membuat laporan mempersiapkan publikasi dalam bentuk seminar/jurnal
2	Sriyadi, S.Pd NIP 198509032009121004	Biologi/ MIPA	Biologi/Struktur dan perkembangan Hewan	6 jam/ minggu	<ol style="list-style-type: none"> 1. membantu mengembangkan konsep dasar penelitian 2. pelaksana penelitian 3. membantu menganalisis data 4. membuat laporan 5. membantu mempersiapkan publikasi
3	Ria Ika Maharani, M. Si. NIP 198208082010122005	Biologi/ MIPA	Genetika dan biomolekuler	6 jam/ minggu	<ol style="list-style-type: none"> 1. membantu mengembangkan konsep dasar penelitian 2. pelaksana penelitian 3. membantu menganalisis data 4. membuat laporan 5. membantu mempersiapkan publikasi

Lampiran 3. Surat Perjanjian Penelitian/ Pengabdian


KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 Gedung D12 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229
 Telp. +62248508112/+62248508005 Fax. +62248508005
 Laman: <http://fmipa.unnes.ac.id>, email : mipa@mail.unnes.ac.id

SURAT PERJANJIAN KONTRAK
PELAKSANAAN PENELITIAN BAGI DOSEN
TAHUN ANGGARAN 2019
Nomor : 98.31.5/UN37/PPK.4.4/2019

Pada hari ini **Jumat** tanggal **Tiga Puluh Satu** bulan **Mei** tahun **Dua Ribu Sembilan Belas**, kami yang bertandatangan dibawah ini:

1. **Prof. Dr. Sudarmin, M.Si.** : **Pejabat Pembuat Komitmen** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang yang berkedudukan di Semarang, berdasarkan Keputusan Rektor Universitas Negeri Semarang Nomor : 1/P/2019 tanggal 2 Januari 2019, dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama KPA Universitas Negeri Semarang, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;

2. **Dr Lisdiana M.Si** : **Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang**, dalam hal ini bertindak sebagai Ketua Pelaksana Penelitian tahun anggaran 2019 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**

Perjanjian penugasan ini berdasarkan kepada:

- Keputusan Rektor Universitas Negeri Semarang Nomor 617/P/2018 tanggal 23 November 2018 tentang Pengangkatan Dekan FMIPA UNNES Antarwaktu masa jabatan 2015-2019
- Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Negeri Semarang (UNNES) Nomor 042.01.2.400899/2019, tanggal 5 Desember 2018
- Surat Keputusan Dekan Nomor T/5370/UN37.1.4/PT.01.02/2019 tanggal 28 Mei 2019 tentang Penentuan Hasil Penelitian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA** secara bersama-sama bersepakat mengikatkan diri dalam suatu Perjanjian Pelaksanaan Penelitian dengan ketentuan dan syarat-syarat diatur dalam Pasal-Pasal berikut :

Pasal 1

- PIHAK PERTAMA** memberi tugas kepada **PIHAK KEDUA**, dan **PIHAK KEDUA** menerima tugas tersebut untuk melaksanakan Penelitian Unggulan PT Dasar Pendidikan (Fakultas) tahun 2019 dengan judul "Analisis Kadar Superoksida Dismutase (SOD) dan Malondialdehyd (MDA) Pada Tikus Yang Terpapar E- Cigarette".
- PIHAK KEDUA** bertanggungjawab penuh atas pelaksanaan, administrasi dan keuangan atas pekerjaan/kegiatan sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dan berkewajiban menyerahkan semua bukti-bukti pengeluaran serta dokumen pelaksanaan lainnya kepada **PIHAK PERTAMA**.
- Pelaksanaan Penugasan Penelitian Dosen tahun 2019 sebagaimana dimaksud pada ayat (1) didanai dari DIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES) Nomor 042.01.2.400899/2019, tanggal 5 Desember 2018

Pasal 2

- (1) **PIHAK PERTAMA** memberikan dana untuk kegiatan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 sebesar **Rp.10.000.000,00 (Sepuluh Juta Rupiah)** yang dibebankan kepada DIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES) 042.01.2.400899/2019, tanggal 5 Desember 2018
- (2) Pelaksanaan Penelitian yang dimaksud pada ayat (1) dimulai sejak tanggal 28 Mei 2019 sampai dengan tanggal 31 Oktober 2019 (154 hari kalender)
- (3) Dana pelaksanaan Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
 - a) Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total bantuan dana kegiatan yaitu $70\% \times \text{Rp.10.000.000,00 (Sepuluh Juta Rupiah)} = \text{Rp.7.000.000,00 (Tujuh Juta Rupiah)}$, dibayarkan setelah **PIHAK KEDUA** menyerahkan dokumen dibawah ini :
 1. Proposal asli yang telah direvisi dan disahkan oleh Pejabat yang berwenang sebanyak 1 (satu) eksemplar
 2. Instrumen penelitian yang telah disetujui Tim Evaluasi sebanyak 2 (dua) eksemplar
 3. Menyerahkan Berita Acara Evaluasi Hasil Instrumen yang di tandatangani oleh Pihak Pertama dan Pihak Kedua, dilampiri Nota Persetujuan Instrumen Penelitian.
 - b) Pembayaran Tahap Kedua/Terakhir sebesar 30% dari total bantuan dana kegiatan yaitu $30\% \times \text{Rp.10.000.000,00 (Sepuluh Juta Rupiah)} = \text{Rp.3.000.000,00 (Tiga Juta Rupiah)}$, dibayarkan setelah **PIHAK KEDUA**
 1. **Mengunggah ke laman sipp.unnes.ac.id** dokumen sebagai berikut:
 - a. Laporan kemajuan penelitian 70%, selambat-lambatnya **30 Agustus 2019**
 - b. Laporan akhir, laporan keuangan 100%, artikel ilmiah selambat-lambatnya **31 Oktober 2019**
 2. **Mengumpulkan ke FMIPA UNNES** dokumen sebagai berikut :
 - a. Laporan penggunaan anggaran 70% dan laporan kemajuan penelitian 70%, masing-masing 1 (satu) eksemplar, selambat-lambatnya **30 Agustus 2019**
 - b. Hardcopy Laporan akhir sebanyak 1 (satu) eksemplar, artikel, catatan harian (*log book*), laporan penggunaan anggaran 30%, laporan keuangan 100% masing-masing 1 (satu) eksemplar selambat-lambatnya **31 Oktober 2019**
 - c. Dokumen a dan b tertuang dalam BAST Hasil Penelitian yang ditanda tangani oleh Pihak Pertama dan Pihak Kedua
- (4) **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab mutlak dalam pembelanjaan dana tersebut pada ayat (1) sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui dan berkewajiban untuk menyerahkan kepada **PIHAK PERTAMA** semua bukti-bukti pengeluaran sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA**.
- (5) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyerahkan Laporan Pelaksanaan Penelitian dan laporan pertanggungjawaban keuangan kegiatan beserta rekapitulasi kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (6) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengembalikan sisa dana yang tidak dibelanjakan ke Kas BLU.
- (7) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyampaikan foto copy bukti pengembalian Dana ke Kas BLU kepada **PIHAK PERTAMA**

Pasal 3

Dana Penelitian sebagaimana dimaksud Pasal 2 ayat (1) dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** secara langsung melalui Bendahara pengeluaran ke rekening BNI Capem Unnes no rekening 0240548757 atas nama Dr Lisdiana M.Si

Pasal 4

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban menindaklanjuti dan mengupayakan hasil program penelitian berupa hak kekayaan intelektual dan atau publikasi ilmiah sesuai dengan luaran yang dijanjikan pada proposal.
- (2) Perolehan hasil sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dimanfaatkan sebesar-besarnya untuk pelaksanaan Tri Dharma Perguruan Tinggi.
- (3) Penilaian kemajuan pelaksanaan penelitian dilakukan oleh **PIHAK PERTAMA**, sedangkan **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengumpulkan laporan kemajuan dan bukti-bukti pengeluaran dana kepada **PIHAK PERTAMA**, dan menggonggahnya pada laman sipp.unnes.ac.id dengan berpedoman kepada prinsip-prinsip dan/atau kaidah Penelitian dan pengelolaan keuangan Negara.

Pasal 5

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengumpulkan laporan kemajuan dan penggunaan anggaran 70% sebanyak 1 (satu) eksemplar paling lambat tanggal **30 Agustus 2019** kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (2) **PIHAK PERTAMA** melakukan Monitoring dan Evaluasi Internal terhadap kemajuan pelaksanaan program Penelitian tahun 2019.

Pasal 6

Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi pelaksanaan penelitian dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan tertulis dari Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Pasal 7

- (1) **PIHAK KEDUA** harus menyampaikan Surat Pernyataan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang dibuktikan dengan Berita Acara Penyelesaian Pekerjaan (BAPP) kepada **PIHAK PERTAMA** berupa Laporan Hasil Program Penelitian dan laporan keuangan 100% selambat-lambatnya tanggal **31 Oktober 2019**.
- (2) Laporan hasil pelaksanaan Penelitian tersebut pada ayat (1) di atas harus memenuhi ketentuan sebagaimana tercantum pada Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Tahun 2019.
- (3) Hardcopy laporan penelitian wajib diserahkan kepada **PIHAK PERTAMA** sebanyak 1 (satu) eksemplar (dokumen laporan untuk anggota, perpustakaan dan Fakultas menjadi tanggung jawab **PIHAK KEDUA**).
- (4) Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan Program Penelitian telah berakhir, **PIHAK KEDUA** belum menyelesaikan tugasnya dan atau terlambat mengirim laporan kemajuan dan atau terlambat mengirim laporan akhir, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan sanksi denda sebesar 1 ‰ (satu permil) setiap hari keterlambatan sampai dengan setinggi-tingginya 5% (lima persen), dihitung dari tanggal jatuh tempo sebagaimana tersebut pada ayat (1), (2) dan (3), yang terdapat dalam Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2019.
- (5) Denda sebagaimana dimaksud pada ayat (4) disetorkan ke Kas BLU serta foto copy bukti setor denda ke kas BLU dan diserahkan kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 8.

- (1) Apabila **PIHAK KEDUA** selaku ketua pelaksana tidak dapat melaksanakan Penelitian ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib menunjuk pengganti ketua pelaksana penelitian yang merupakan salah satu anggota tim setelah mendapat persetujuan tertulis dari Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.



- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 maka harus mengembalikan dana yang telah diterimanya ke Kas BLU serta menyerahkan fotocopy bukti pengembalian ke kas BLU kepada **PIHAK PERTAMA**.
- (3) Apabila dikemudian hari terbukti bahwa judul Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 dijumpai adanya indikasi duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau diperoleh indikasi ketidakjujuran/itikad kurang baik yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah, maka kegiatan Penelitian tersebut dinyatakan batal, dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana Penelitian yang telah diterima ke Kas BLU serta menyerahkan fotocopy bukti pengembalian ke kas BLU kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 9

PIHAK KEDUA berkewajiban memungut dan menyeter pajak ke kantor pelayanan pajak setempat yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa:

- (1) pembelian barang dan jasa dikenai PPN sebesar 10%, PPh 22 sebesar 1,5% dan PPh 23 sebesar 2%;
- (2) belanja honorarium dikenai PPh Pasal 21 dengan ketentuan:
 - a. 5% bagi yang memiliki NPWP untuk golongan III, serta 6% bagi yang tidak memiliki NPWP;
 - b. untuk golongan IV sebesar 15%; dan
- (3) pajak-pajak lain sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 10

- (1) Hak Kekayaan Intelektual yang dihasilkan dari pelaksanaan Penelitian tersebut diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan dan perundang-undangan yang berlaku.
- (2) Hasil Penelitian berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari kegiatan ini adalah milik negara yang dapat dihibahkan kepada institusi/lembaga/masyarakat melalui Surat Keterangan Hibah.

Pasal 11

- (1) Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses Hukum yang berlaku dengan memilih domisili Hukum di Pengadilan Negeri Semarang.
- (2) Hal-hal yang belum diatur dalam perjanjian ini akan diatur kemudian oleh kedua belah pihak.

Pasal 12

Surat Perjanjian Kerja Pelaksanaan Penelitian Tahun 2019 ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, dan biaya materai dibebankan kepada **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA



Prof. Dr. Sudarmin, M.Si
NIP.196601231992031003

PIHAK KEDUA

Dr Lisdiana M.Si
NIP.195911191986032001



Scan
Can

Lampiran 4. Artikel ilmiah

Analysis of Malondialdehyde and Superoxide Dismutase Levels After Exposure of Electric Cigarette In Rats

Lisdiana, Ria Ika Maharani dan Sriyadi

Department of Biology, Faculty of Mathematic and Science Universitas Negeri Semarang, D6 Building Floor 1, Sekaran Campus, Gunungpati, 50229 Semarang, Indonesia

Lisdiana@mail.unnes.ac.id

Abstract. Rokok elektrik merupakan rokok yang beroperasi dengan tenaga baterai untuk membakar cairan sehingga menghasilkan uap. Salah satu kandungan rokok elektrik adalah nikotin. Nikotin adalah senyawa kimia yang dapat menyebabkan addiction dan pemicu terjadinya stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar malondialdehyd dan superoksigen dismutase pada darah tikus yang terpapar nikotin dari rokok elektrik. Penelitian dilakukan pada 30 ekor tikus jantan galur Wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol (-), kontrol (+), P1 (rokok elektrik dengan nikotin 0,25 mg) dan P2 (rokok elektrik dengan nikotin 0,5 mg), dan P3 (rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg) dengan paparan asap rokok selama 30 hari. Kadar MDA dan SOD. Pengukuran kadar MDA menggunakan metode TBARs, pembacaan hasil menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm. Kadar SOD diukur dengan metode kalorimetri. Data dianalisis dengan uji non parametric kruskal wallis dan Man Whitney untuk kadar MDA dan uji *one way anova* dan uji lanjut LSD untuk kadar SOD. Hasil analisis statistik menunjukkan kadar MDA dan SOD pada kelompok kontrol (-) berbeda nyata dengan semua kelompok. Simpulan dari penelitian ini adalah nikotin berpengaruh pada peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD. Semakin tinggi kadar nikotin maka semakin besar peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD.

Abstract: Electric cigarette (e-cigarette) is cigarette that operate on battery power to burn liquids and to produce a steam. One of the contents of an electric cigarette is nicotine. It is a chemical compound that can cause addiction and trigger oxidative stress. This study aims to analyze the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in the blood of rat that exposed to nicotine from e-cigarettes. The study was conducted on 30 male Wistar rats wich divided into 5 groups, control group (-), control (+), P1 (e-cigarette with nicotine 0.25 mg) and P2 (e-cigarette with 0.5 mg nicotine) and P3 (e-cigarette with nicotine 0.75 mg) with exposure to cigarette smoke for 30 days. MDA and SOD levels measurements using the TBARs method, the results that can be known using a spectrophotometer with a wavelength of 532 nm. SOD levels were measured by the calorimetry method. Data were analyzed with non-parametric kruskal wallis test and Man Whitney for MDA levels and one way ANOVA test and LSD advanced test for SOD levels. Statistical analysis showed that MDA and SOD levels in the control group (-) were

significantly different from all groups. The conclusion is that nicotine has an effect on increasing MDA levels and decreasing SOD levels. If the nicotine level is higher, the increase in MDA levels will be greater and decreased SOD levels.

Keyword: e-cigarette, MDA, SOD

1. Introduction

Prevalensi merokok di Indonesia sangat tinggi diberbagai lapisan masyarakat, terutama laki-laki mulai dari anak-anak, remaja, dan dewasa. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013, sebesar 85% rumah tangga di Indonesia terpapar asap rokok. Jumlah perokok pria meningkat 14%, sedangkan perokok wanita meningkat sebanyak 2,8% dari tahun 1995 sampai tahun 2011. Peningkatan jumlah perokok terjadi karena adanya peningkatan jumlah penduduk yang meningkat 2 kali lipat selama 50 tahun terakhir. Berdasarkan data terbaru ini, jumlah perokok di seluruh dunia meningkat hampir 250 juta orang [1].

Pada era ini telah terjadi kemajuan dengan adanya kemunculan rokok elektrik atau rokok vape yang dipercaya mampu mengurangi efek bahaya dari rokok konvensional. Rokok elektrik seolah-olah mungkin tampak terlihat lebih aman dan tidak beracun daripada rokok konvensional. Meskipun rokok elektrik tidak menggunakan tembakau namun dalam rokok elektrik masih mengandung nikotin dan bahan kimia lainnya yang berpotensi membahayakan bagi tubuh. Rokok Elektrik merupakan rokok yang beroperasi menggunakan tenaga baterai yang selanjutnya akan memanaskan sejumlah cairan yang tersimpan di dalam *cartridge* untuk memproduksi asap yang akan dihisap oleh pengguna [2]. Pelarut yang digunakan yang paling populer dalam rokok elektrik adalah gliserin (VG), propilen glikol (PG), atau kombinasi gliserin dan propilen glikol dengan perbandingan dengan perbandingan tertentu [3]. Dalam hal ini cairan yang dimaksud adalah nikotin, karena rokok elektrik juga mengandung nikotin seperti pada rokok konvensional. Nikotin termasuk zat adiktif, dalam hal ini nikotin dapat membuat pengguna menjadi ingin mengonsumsi terus menerus atau biasa disebut dengan kecanduan. Di dalam rokok elektrik mengandung propilen glikol, nikotin, gliserin, dan flavouring (perasa). Sedangkan pada rokok tembakau mengandung Tar, CO, Nikotin, dan logam-logam berat.

Salah satu kandungan rokok elektrik yang ada pada rokok tembakau adalah nikotin. Nikotin adalah senyawa alkaloid yang terdapat pada daun tembakau disamping anabasin dan senyawa-senyawa alkaloid lainnya. Nikotin memiliki rumus kimia $C_{10}H_{14}N_2$ dengan berat molekul 162,23 gr/mol serta konsentrasi Nikotin biasanya sekitar 5% dari berat tembakau. Nikotin inilah yang membuat seseorang kecanduan merokok. Meskipun yang terkandung dalam satu batang rokok sekitar 10 mg, namun yang benar terserap ke dalam tubuh sebanyak 1–2 mg saja, sisanya terbuang ke udara [4].

Apabila rokok elektrik secara terus menerus dikonsumsi, uap yang dihasilkan menjadi CO berupa asap akan terakumulasi dalam tubuh. Pada keadaan ini, tubuh dapat mengalami stres oksidatif [5] [6] [7]. Suatu marker terjadinya stress oksidatif adalah tingginya kadar *malondialdehyde* (MDA) dan menurunnya aktivitas SOD akibat proses peroksidasi lipid yang berlebihan di dalam sel [8]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar MDA dan SOD pada darah.

2. Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang dan analisis uji dilakukan di Laboratorium Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Penelitian ini merupakan penelitian

eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian “*the post test only group*” dengan sampel 30 tikus galur wistar jantan usia 2-3 bulan, dengan berat badan 200-300 gram, sehat dan tidak cacat yang diperoleh dari Laboratorium Biologi FMIPA UNNES. Pada penelitian ini tikus dibagi menjadi 5 kelompok kelompok secara random yang terdiri atas kelompok negatif (K-), kelompok control (K+), kelompok perlakuan 1 (P1) dengan kadar nikotin 0,25 mg, kelompok perlakuan 2 (P2) dengan kadar 0,5 mg dan kelompok perlakuan 3 (P3) dengan kadar nikotin 0,75 mg selama 30 hari. Alat yang digunakan berupa nebulizer, pipet hematokrit, sentifuge, dan spektrofotometri. Untuk bahan yang digunakan berupa rokok kretek, rokok elektrik dengan kadar nikotin 3mg/60ml, 6mg/60ml, dan 9mg/60ml.

Pengukuran kadar MDA menggunakan metode : TBARs (Wursyastuti *et al*, 1996 (Indonesian Food and Nutrition Progress, 2000 vol 7 no.2). sampel yang digunakan menggunakan plasma darah. Hasil analisis dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

Tabel 1. Prosedur pengukuran kadar MDA

	Sampel	Standart	Blangko
H ₃ PO ₄	750µl	750µl	750µl
TBA	250µl	250µl	250µl
Sampel	50µl		
Standart		50µl	
aquabides			50µl
Aquabides	450µl	450µl	450µl

Pengukuran kadar SOD metode kalorimetri. Sampel yang digunakan dalam pengukuran ini adalah serum. Prosedur pengukuran aktivitas SOD dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Prosedur pengukuran kadar SOD.

	Sampel	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3
<i>Whole blood</i>	20 µl	-	20 µl	-
ddH ₂ O	-	20 µl	-	20 µl
Larutan pereaksi WST (<i>Water-Soluble Tetrazolium</i>)	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
Larutan pengencer buffer	-	-	20 µl	20 µl
Larutan pereaksi enzim	20 µl	20 µl	-	-

Semua larutan dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit, selanjutnya dil pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*.

Analisis data dilakukan secara statistik pada penelitian ini menggunakan statistik parametrik, yaitu menggunakan analisis data uji statistik *one way* Anova. Kemudian untuk data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka menggunakan statistik non parametrik Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan Mann Whitney. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data dan homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov test dilanjutkan uji homogenitas

dengan uji Levene test. Kemudian untuk mengetahui perbedaan rata-rata antara kelompok dilakukan uji komparasi menggunakan uji One Way Anova dan dilanjutkan dengan uji Least Significant Differences (LSD). Analisis statistik dibantu dengan program SPSS (Statistical Product and Service Solutions) for windows versi 2.0.

3. Hasil dan pembahasan

Pengukuran kadar MDA dengan metode TBARs dengan menggunakan plasma darah yang diambil melalui sinus orbitalis tikus *Rattus norvegicus*. Kemudian dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm. Adapun hasil rerata kadar MDA dapat dilihat di tabel 4.

Tabel 4. Hasil rerata kadar MDA

Kelompok	Perlakuan	Kadar MDA (nmol/ml)
Kontrol Negatif	Normal	3,92
Kontrol Positif	Rokok kretek 3 batang	27,50
P1	Rokok elektrik dengan nikotin 0,25 mg	9,08
P2	Rokok elektrik dengan nikotin 0,5 mg	15,50
P3	Rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg	21,50

Dari hasil data penelitian menunjukkan data kadar MDA berdistribusi normal, namun pada hasil uji homogenitas data MDA tidak homogen hal ini disebabkan setiap angka yang dihasilkan pada setiap kelompok terpaut jauh sehingga digunakan uji non parametrik menggunakan uji Mann-Whitney dilanjutkan dengan Uji Kruskal-Wallis.

Hasil Uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa kelompok kontrol negative menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap kelompok yang terpapar rokok kretek dengan hasil 3,92 nmol/mol dan 27,50 nmol/ml. sedangkan untuk kelompok kontrol negative memiliki perbedaan yang nyata dengan 3 kelompok variasi nikotin. Dan untuk kelompok kontrol positif menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap 3 variasi kelompok nikotin. Dari hasil uji Mann-Whitney nikotin dalam rokok elektrik berpengaruh terhadap hasil peningkatan kadar MDA. Hasil peningkatan kadar MDA tertinggi diantara 3 kelompok variasi nikotin ditunjukkan pada kelompok perlakuan ke-3 yang terpapar rokok elektrik dengan kadar nikotin 0,75 mg yaitu sebanyak 21,50 nmol/ml. dalam hal ini untuk kelompok perlakuan ke-3 yang terpapar rokok elektrik dengan kadar nikotin 0,75 mg hampir mendekati hasil dari kadar MDA pada kelompok kontrol positif yaitu sebanyak 27,50 nmol/ml. Untuk hasil peningkatan kadar MDA terendah ditunjukkan pada kelompok perlakuan ke-1 yang terpapar rokok elektrik dengan kadar nikotin 0,5 mg yaitu sebanyak 9,08 nmol/ml. Semakin tinggi kadar nikotin maka semakin tinggi pula peningkatan kadar MDA.

Pengukuran kadar SOD menggunakan metode kalorimetri, menggunakan serum darah yang diambil melalui *sinus orbitalis* pada tikus *Rattus norvegicus*. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*. Adapun hasil data kadar SOD dapat dilihat di Tabel 3.

Tabel 3. Hasil rerata kadar SOD

Kelompok	Perlakuan	Kadar SOD (%)
Kontrol negatif	Normal	85,12 ± 1,94 ^a

Kontrol Positif	Rokok kretek 3 batang	22,34 ± 3,98 ^b
P1	Rokok elektrik dengan nikotin 0,25 mg	76,32 ± 3,98 ^c
P2	Rokok elektrik dengan nikotin 0,50 mg	51,77 ± 4,59 ^d
P3	Rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg	39,00 ± 4,59 ^e

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan pada setiap kelompok perlakuan dengan taraf ketelitian $p < 0,05$.

Dari hasil data penelitian hasil kadar SOD menunjukkan bahwa data kadar SOD terdistribusi normal, dan untuk hasil uji homogenitas data kadar SOD menunjukkan data yang homogen sehingga dapat digunakan uji one way anova dan dilanjutkan uji LSD.

Hasil uji LSD pada kadar SOD bahwa pada kelompok kontrol negative berbeda nyata dengan kelompok kontrol positive dan 3 kelompok variasi nikotin. Sedangkan untuk kontrol positif hasilnya berbeda nyata dengan 3 kelompok variasi nikotin. Dari hasil uji LSD nikotin dalam rokok elektrik berpengaruh terhadap kadar SOD pada setiap kelompok perlakuan sehingga menyebabkan kadar SOD menurun. Untuk hasil penurunan kadar SOD tertinggi yang terjadi pada 3 kelompok variasi nikotin dihasilkan pada kelompok nikotin 0,75 mg meningkat sebanyak 39,00 ± 4,5%. Pada hasil angka tersebut hampir mendekati dari hasil kelompok kontrol positif yaitu 22,34 ± 3,98 %. Sedangkan untuk hasil penurunan SOD terendah terjadi pada kelompok perlakuan ke-1 yaitu dengan perlakuan dipapar rokok elektrik dengan kadar nikotin 0,5 mg memperoleh hasil 76,32 ± 3,98 %. Semakin tinggi kadar nikotin dalam rokok elektrik maka semakin terjadi penurunan kadar SOD.

3.3 Pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar MDA

Dari hasil kelompok perlakuan variasi nikotin yang terpapar rokok elektrik hasil tertinggi peningkatan kadar MDA terjadi pada kelompok terpapar rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg. Sedangkan untuk hasil terendah peningkatan kadar MDA terjadi pada kelompok yang terpapar rokok elektrik dengan nikotin 0,5 mg.

Jika dibandingkan dengan kelompok yang terpapar rokok kretek, maka pada hasil kelompok rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg yang paling mendekati dengan kelompok yang terpapar rokok kretek. Hal ini disebabkan untuk kadar nikotin yang terkandung dalam 3 batang rokok kretek sebanyak 6,9 mg dan didalam rokok kretek tidak hanya mengandung nikotin saja namun masih terdapat kandungan senyawa-senyawa lain yang lebih berbahaya dalam terbentuknya radikal bebas dalam tubuh. Sehingga dalam penelitian ini rokok kretek dijadikan sebagai kontrol positif. Sedangkan untuk rokok elektrik dengan kadar nikotin 0,75 mg dapat menghasilkan kadar MDA yang lebih tinggi dari kelompok variasi nikotin lain karena adanya konsumsi nikotin yang terus menerus sehingga menyebabkan rusaknya membrane lipid dan nikotin dapat meningkatkan produksi dopamine dalam otak yang menyebabkan suatu kecanduan serta timbulnya radikal bebas yang dihasilkan lebih banyak. Radikal bebas yang terakumulasi dalam tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif. Meningkatnya suatu radikal bebas dalam tubuh ditandai dengan tingginya kadar MDA dalam tubuh.

Malondialdehyde (MDA) merupakan salah satu senyawa aldehyde hasil dari peroksidasi lipid. Terjadinya Peroksidasi lipid disebabkan adanya oksidasi asam lemak tidak jenuh ganda pada membrane sel oleh radikal bebas serta tinggi rendahnya kadar MDA sangat bergantung pada tinggi rendahnya pertahanan endogen antioksidan dalam tubuh [9]. Salah satu kandungan dari rokok elektrik yang masih ditemukan seperti di rokok tembakau adalah nikotin. Nikotin merupakan hasil metabolisme sekunder termasuk dalam golongan alkaloid sejati yang berasal

dari sintesis dari asam nikotik. Jika konsumsi nikotin dilakukan secara terus menerus maka akan menyebabkan kecanduan. Nikotin masuk ke tubuh dapat melalui saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan kulit. Dari cara seseorang merokok maka nikotin masuk dalam tubuh melalui saluran pernafasan. Untuk dapat sampai masuk ke darah, nikotin masuk melalui sirkulasi pulmonal selanjutnya akan dibawa ke otak. Di dalam otak terdapat reseptor penerima nikotin yang disebut *Nicotinic Cholinergic Receptors (nicotinic acetylcholine receptors atau nAChRs)*. Ikatan nikotin di permukaan antara 2 subunit pada reseptor ini akan membuka jalur yang memungkinkan ion sodium atau kalsium masuk, masuknya 2 ion ini akan mengaktifkan tegangan saluran kalsium yang membuat pemasukan kalsium lebih banyak. Efek yang ditimbulkan dari masuknya ion kalsium adalah dilepaskannya *neurotransmitter*. Dan dopamine merupakan salah satu *neurotransmitter* yang dilepas. Sebelum dopamine dilepaskan, nikotin terlebih dahulu mengaktifkan glutamine, yang berfungsi sebagai neurotransmitter yang bekerja dalam membantu pelepasan dopamine dan pelepasan asam γ -aminobutirik (GABA) yang dapat menghambat aktifnya dopamine. Nikotin dapat meningkatkan kadar dopamine dalam otak. Apabila konsumsi rokok mengalami penurunan, secara otomatis terjadi pula penurunan kadar nikotin dalam tubuh maka si perokok akan mengalami kegelisahan untuk dapat mengonsumsi rokok terus menerus [10].

Nikotin yang masuk dalam tubuh juga akan dimetabolisme di hati. Nikotin akan dikonversi menjadi kotinin melalui transformasi yang melibatkan 2 cara, pertama mediasi dari cytochrome P450 yang dapat menghasilkan nikotin- $\Delta^{1(5)}$ -iminiu-ion yang equilibrium dengan 5-hydroxynicotine. Dan yang kedua katalisa dari cytoplasmic aldehyde oxidase. Metabolisme iminium dapat terjadi melalui jalur transpor electron dengan siklus redoks yang akan menghasilkan suatu radikal. Metabolic kationik muncul dari beberapa jalur, termasuk oksidasi nikotin itu sendiri dan protonasi myosmine yang berasal dari normicotine melalui demetilasi nikotin. Metabolisme ini memerlukan hidrolisis imotin nikotin menjadi ketoamina dengan rantai yang terbuka sehingga akan mengalami nitrosasi untuk membentuk suatu nitrosamine yang beracun. Selanjutnya nitrosamine berfungsi sebagai alkylator DNA dan menyebabkan aktifnya berbagai kerusakan oksidatif dan jalur radikal [11].

3.4 Pengaruh nikotin dalam rokok elektrik terhadap kadar MDA

Nikotin dalam rokok elektrik berpengaruh terhadap penurunan kadar SOD dalam tubuh hal ini ditunjukkan dengan hasil kelompok kontrol yang tidak terpapar dengan kelompok variasi nikotin dalam rokok elektrik, serta untuk kelompok yang terpapar rokok kretek dengan kelompok variasi nikotin dalam rokok elektrik. Dari hasil kelompok variasi nikotin dalam rokok elektrik hasil tertinggi penurunan kadar SOD terjadi pada kelompok yang terpapar rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg. Sedangkan untuk hasil terendah peningkatan kadar SOD terjadi pada kelompok yang terpapar rokok elektrik dengan nikotin 0,25 mg. Jika dibandingkan dengan kelompok yang terpapar rokok kretek, maka pada hasil kelompok rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg merupakan kelompok yang paling mendekati dengan kelompok yang terpapar rokok kretek. Hal ini disebabkan untuk kadar nikotin yang terkandung dalam 3 batang rokok kretek sebanyak 6,9 mg dan didalam rokok kretek tidak hanya mengandung nikotin saja namun masih terdapat kandungan senyawa-senyawa lain yang lebih berbahaya dalam terbentuknya radikal bebas dalam tubuh. Sedangkan untuk rokok elektrik dengan kadar nikotin 0,75 mg ini dapat menghasilkan kadar SOD yang lebih rendah dari kelompok variasi nikotin dalam rokok elektrik lain karena adanya konsumsi nikotin yang terus menerus sehingga terjadi penurunan pertahanan endogen dalam tubuh dan nikotin dapat meningkatkan produksi dopamine dalam otak yang dapat menyebabkan suatu kecanduan sehingga radikal bebas yang dihasilkan lebih banyak. Dan radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif. Meningkatnya radikal bebas dalam tubuh ditandai dengan menurunnya kadar SOD dalam tubuh.

SOD (*Superoksida dismutase*) adalah antioksidan enzimatis yang melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Muchtadi 2013). SOD mengkatalisis mengkatalis reaksi reduksi radikal anion superoksida (O_2^*) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Enzim SOD merupakan suatu pertahanan endogen untuk melindungi berbagai radikal bebas apapun yang masuk dalam tubuh. Ketika jumlah radikal bebas yang masuk dalam tubuh melebihi jumlah maksimum kerja enzim SOD maka penggunaan enzim SOD yang lebih banyak sehingga kerja enzim SOD mengalami gangguan, dan menyebabkan penurunan kadar SOD pada tubuh. Pada kelompok rokok elektrik dengan nikotin 0,75 mg merupakan kelompok paling menghasilkan kadar SOD yang paling rendah yaitu sebanyak $39,00 \pm 4,59\%$, dan berbeda nyata dengan semua kelompok lainnya. Hal ini disebabkan kadar nikotin yang dimiliki paling tinggi diantara kelompok variasi nikotin lain yaitu sebanyak 0,75 mg. Sehingga ketika seorang perokok mengonsumsi rokok elektrik dengan kadar nikotin 0,75 mg maka seorang perokok akan lebih mengalami kecanduan ingin mengonsumsi terus menerus dan menyebabkan peningkatan penumpukan radikal bebas. Dari penumpukan radikal bebas yang terus mengalami peningkatan aktivitas enzim SOD menjadi terganggu yang membuat adanya proses ketidakseimbangan antioksidan dan oksidan dalam tubuh.

kelompok yang terpapar rokok kretek tetap menghasilkan penurunan kadar SOD yang rendah karena di dalam rokok kretek tidak hanya mengandung nikotin namun yang masih terdapat senyawa-senyawa lain yg semakin membuat berbahaya radikal bebas yang dihasilkan dan masuk ke dalam tubuh. Nikotin adalah amina (salah satu kelompok senyawa yang mengandung nitrogen). Nikotin berikatan dengan reseptor nikotin asetilkolin disingkat nAChRs. Nikotin merangsang reseptor untuk memulai reaksi yang menghasilkan pelepasan neurotransmitter lebih lanjut (pembawa pesan kimia yang bergerak di antara saraf, otot, atau kelenjar) [12].

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah oksidan yang sangat reaktif. Dalam hal ini radikal bebas merupakan salah oksidan yang sangat reaktif. Radikal bebas yang dihasilkan tidak hanya berasal dari rokok kretek namun juga bisa berasal rokok elektrik. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut hingga ROS itu dihilangkan oleh ROS yang lain atau sistem antioksidan [13].

Berdasarkan penelitian, diketahui bahwa meskipun di rokok elektrik tidak mengandung tembakau, namun didalamnya masih terdapat nikotin yang berpengaruh dalam peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD.

4. Kesimpulan

Nikotin dalam rokok elektrik memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD pada tubuh.

Daftar Pustaka

- [1] Marie. 2014. Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries. 1980-2012. JAMA.
- [2] Wollscheid, K. A., & Kremzner, M. E. 2009. Electronic cigarettes: Safety concerns and regulatory issues. *American Journal of Health-System Pharmacy*. **66**(19), 1740-1742
- [3] Kosmider, L., Sobczak, A., Fik, M., Knysak, J., Zaciera, M., Kurek, J., & Goniewicz, M. L. 2014. Carbonyl compounds in electronic cigarette vapors: effects of nicotine

- solvent and battery output voltage. *Nicotine & Tobacco Research*, **16**(10), 1319-1326.
- [4] Aji, A., Maulinda, L., & Amin, S. 2017. Isolasi Nikotin dari Puntung Rokok Sebagai Insektis. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, **4**(1), 100-120.
- [5] Botham, Kathleen M & Mayes, Peter A. 2009. Cholesterol Syntesis, Transport & Excretion. In: *Harper's illustrated Biochemistry .28thEd. USA: LANGE Mc Graw Hill*. chapter 26. p 224-233.
- [6] Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009. *Biokimia Harper*, (Andri Hartono). Edisi 27.Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.
- [7] Kapisa OC, Permatasari N, Wahyu T, Nugrahenny D, Widodo MA. 2013. Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Paru Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) pada Berbagai Macam Lama Waktu Paparan Asap Kendaraan Bermotor. Diunduh dari www.http.old.fk.ub.ac.id/artikel/id/filedownload/kedokteranmajalah.
- [8] Moselhy HF, Reid RG, Yousef S, Boyle Sp. 2013. A specific, accurate, and sensitive measure of total plasma malondialdehyde by HPLC. *Journal of lipid research*. **54**(3):852-858.
- [9] Rahmawati, N. N., Sugiyanta, S., & Sakinah, E. N. 2018. Pengaruh Pemberian Cuka Apel'A' terhadap Kadar MDA Hepar Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik (The Effect of'A'Apple Vinegar on the Liver MDA of Male Wistar Rat Induced by Toxic Dose of Paracetamol). *Pustaka Kesehatan*. **6**(2): 272-277.
- [10] Triandhini, R. R., Mangimbulude, J. C., & Karwur, F. F. 2013. Merokok dan oksidasi DNA. *Sains Medika*, **5**(2), 120-127.
- [11] Saniwu, L. M., & Suprayogi, A. 2010. Analisis Hematologi, Nilai Kecernaan dan Tingkah Laku Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) Jantan Obes yang Diintervensi Nikotin. *Jurnal Primatologi Indonesia*, **7**(1).
- [12] Christensen, D. 6.3 Mechanism of action. In Scollo, MM and Winstanley, MH. 2018. Tobacco in Australia: Facts and issues. Melbourne: Cancer Council Victoria.
- [13] Pillon, N. J., & Soulage, C. O. 2012. Lipid peroxidation by-products and the metabolic syndrome. In *Lipid Peroxidation*. InTech.

Lampiran 5. Dokumentasi



Gambar 6. Liquid Vape



Gambar 7. Proses pengasapan hewan coba



Gambar 8. Sampel darah dalam microtube