



## EKSTRAK BIT MERAH (*BETA VULGARIS L*) MENINGKATKAN EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN- $\alpha$ PADA *RATTUS NORVEGICUS* BETINA YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

### *BETA VULGARIS L. EXTRACT INCREASED EXPRESSION OF ESTROGEN- $\alpha$ RECEPTORS IN RATTUS NORVEGICUS FEMALE WHICH WAS EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE*

Dewita

Prodi Kebidanan Langsa Poltekkes Kemenkes Aceh

\*E-mail: witadewita1980@gmail.com

#### ARTICLE INFO

##### **Kata Kunci :**

Asap rokok; ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$ ; ekstrak Bit merah

##### **Keywords :**

Cigarette smoke; estrogen receptor expression; red beet extract

##### **History:**

Submitted 02/10/2021

Revised 08/10/2021

Accepted 02/11/2021

Published 31/12/2021

Penerbit



Politeknik Kesehatan Aceh  
Kementerian Kesehatan RI

#### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Asap rokok mengandung sekitar 4000 senyawa kimia yang berbahaya bersifat toksik bagi kesehatan manusia. Paparan asap rokok menyebabkan terjadi stres oksidatif di endometrium sehingga menghambat proliferasi sel endometrium melalui berbagai mekanisme yang mengakibatkan gangguan siklus menstruasi dan berkontribusi terjadi infertilitas. **Tujuan:** Penelitian bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak Bit merah (*Beta Vulgaris L*) terhadap ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  pada tikus putih betina (*Rattus Norvegicus*) yang dipapar asap rokok. **Metode:** Metode penelitian yaitu *True Experimental Post Test Only Control Group* menggunakan 25 ekor tikus betina putih *Rattus Norvegicus* dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak Bit merah melalui oral dengan dosis 125 mg/KgBB/hari, 250 mg/KgBB/hari, dan 500 mg/KgBB/hari serta dipapar asap rokok sebanyak 2 batang/hari selama 8 minggu. Kemudian dilakukan pengambilan organ uterus untuk mengukur ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  dengan metode imunohistokimia. **Hasil:** Penelitian ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok mengalami penurunan jumlah ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dipapar asap rokok selama 8 minggu (56 hari). **Kesimpulan:** Pemberian ekstrak Bit merah dengan dosis 125 mg/KgBB/hari, 250 mg/KgBB/hari, dan 500 mg/KgBB/hari berpengaruh terhadap meningkatnya ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  pada tikus betina *Rattus Norvegicus* yang dipapar asap rokok.

#### ABSTRACT

**Background:** Cigarette smoke contains about 4000 chemical compounds that are harmful and toxic to human health. Exposure to cigarette smoke causes oxidative stress in the endometrium, thereby inhibiting the proliferation of endometrial cells through various mechanisms that result in disruption of the menstrual cycle and contribute to infertility. **Objective:** The aim of the study was to prove the effect of red beetroot extract (*Beta vulgaris L*) on the expression of estrogen receptor in female white rats (*Rattus norvegicus*) exposed to cigarette smoke. **Methods:** The research method is *True Experimental Post Test Only Control Group* using 25 white female *Rattus Norvegicus* rats divided into 2 control groups and 3 treatment groups by giving red beet extract orally at a dose of 125 mg/KgBW/day, 250 mg/KgBW/day, and 500 mg/KgBW/day and exposed to cigarette smoke as much as 2 sticks/day for 8 weeks. Then, uterine organ was taken to measure the expression of estrogen receptor by immunohistochemical method. **Results:** This study showed that cigarette smoke exposure decreased the amount of estrogen receptor expression between the control group and the treatment group who were exposed to cigarette smoke for 8 weeks (56 days). **Conclusion:** The administration of red beet extract at a dose of 125 mg/KgBW/day, 250 mg/KgBW/day, and 500 mg/KgBW/day had an effect on increasing the expression of estrogen receptors in female *Rattus Norvegicus* rats exposed to cigarette smoke.

## PENDAHULUAN

WHO Menyatakan jumlah perokok di dunia mencapai 1,2 milyar orang dan 800 juta orang terdapat di negara-negara berkembang. Di Indonesia jumlah perokok berada urutan ketiga dunia setelah negara Cina dan India, sehingga berpengaruh pada kenaikan angka kesakitan dan kematian akibat rokok. Pada tahun 2007-2013 masyarakat Indonesia yang merokok mengalami peningkatan sebesar 23,7% - 24,3 % (Depkes RI, 2014). Paparan asap rokok tidak hanya beresiko terhadap perokok itu sendiri (perokok utama), namun beresiko terhadap non perokok (perokok pasif) yang berada disekitar perokok utama yang memberi efek negatif pada kesehatan reproduksi.

Infertilitas merupakan masalah yang sangat sensitif bagi pasangan usia subur terutama wanita. Secara epidemiologi faktor resiko infertilitas yaitu ekonomi, gaya hidup dan lingkungan. Perokok adalah faktor resiko yang paling banyak berkontribusi dalam infertilitas. 10-15 % pasangan suami istri didunia mengalami infertilitas (Olooto et al., 2012). Negara Afrika memiliki angka prevalensi infertilitas sangat tinggi sebesar 20-60 %. Prevalensi infertilitas di Asia yaitu 30,8% di Kamboja, 10% di Kazakhtan, 43,7% di Turkmenistan, dan 21,3% di Indonesia (POGI, 2013). Penyebab infertilitas adalah terjadinya gangguan ovulasi, penyumbatan saluran tuba, dan adanya gangguan hormon estrogen pada wanita. Hal ini disebabkan terjadinya stres oksidatif pada organ reproduksi wanita (Naserzadeh, et al, 2015).

ROS (*Reactive Oxygen Species*) dihasilkan dari proses oksidasi kimia tubuh manusia baik secara fisiologis maupun patologis. ROS yang patologis FJK, Vol. 1 No. 1 Desember 2021

menyebabkan terjadinya penyakit pada manusia. Apabila ROS dan antioksidan terjadi ketidakseimbangan, maka dapat terjadi stres oksidatif. Sumber ROS ada 2 kelompok yaitu endogen dan eksogen. Sumber ROS endogen dihasilkan pada organel seluler seperti mitokondria, *peroxisome*, dan sitokrom. Sedangkan sumber ROS eksogen dihasilkan dari polusi udara, tembakau, asap rokok, obat-obatan, *xenobiotik*, radiasi dan lain-lain (Prasad et al., 2017).

Paparan asap rokok pada tikus betina dapat mempengaruhi kerusakan folikel di ovarium dan menghambat pertumbuhan proliferasi sel di endometrium sehingga terjadi apoptosis (Lee et al., 2017). Pemberian nikotin pada tikus, terbukti dapat merubah histologi uterus dan saluran sel telur yang dipengaruhi oleh hormon estradiol menurun sehingga terjadi penurunan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  (Seyed et al., 2014). Kandungan *benzo(a)pyrene* dalam asap rokok mempengaruhi penurunan hormon estradiol menyebabkan hilangnya atau menurunnya pertumbuhan sel follikel di ovarium melalui apoptosis (Tuttle, et al, 2009).

Reseptor estrogen merupakan reseptor hormon golongan steroid, yang dimediasi oleh estrogen didalam inti sel, kemudian terjadi ekspresi reseptor estrogen dan berikatan dengan DNA dalam organ reproduksi. Reseptor estrogen terdiri dari dua subtipe, yaitu reseptor estrogen  $\alpha$  dan reseptor estrogen  $\beta$ . Kedua reseptor estrogen ini ditemukan pada lokalisasi dan konsentrasi yang berbeda (Hiroi et al, 1999). Penelitian Ratnawati et al (2014), pemberian alfa *tocopherol* pada tikus betina yang dipapar asap rokok, terbukti dapat mencegah stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya

kadar hormon estrogen. Penelitian lain menyebutkan, bahwa pigmen antosianin ubi jalar ungu terbukti efektif mencegah stres oksidatif ditandai dengan meningkatnya ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  pada tikus betina yang dipapar asap rokok, sehingga dapat menangkal radikal bebas pada endometrium dan kemungkinan mencegah terjadi infertilitas (Utami, 2016).

Senyawa yang dapat menyelamatkan tubuh dari bahaya radikal bebas adalah antioksidan. Sumber antioksidan dihasilkan dari dalam tubuh yaitu, *Superoksida Dismutase* (SOD), *Catalase* (Cat), dan *glutathione peroksidase* (Gpx). Sedangkan sumber antioksidan yang didapat dari luar tubuh yaitu dari tumbuhan yang memiliki sifat mirip antioksidan. Misalnya vitamin C, vitamin E,  *$\alpha$ -tocopherol*, flavonoid, niasin, *phycoyanin*, dan lain-lain (Werdhasari, 2014). Salah satu sumber antioksidan yang paling banyak didapatkan yaitu dari Bit merah (*Beta vulgaris L*), yang memiliki senyawa aktif betalain. Senyawa Betalain merupakan pigmen mengandung nitrogen yang dapat larut air. Dalam Bit merah terdapat senyawa aktif betalain (Clifford, et al, 2015). Senyawa betalain disebut juga dengan asam betalainat dan turunannya *betacyanin* dan *betaxanthin* (Mereddy et al., 2016). Betalain memiliki sifat sebagai antioksidan, sehingga mampu melindungi komponen tubuh dari gangguan stres oksidatif (Ninfali & Angelino, 2013). Senyawa betalain dalam Bit merah mempunyai antioksidan lebih besar yaitu 1-2 kali lipat dari antosianin (Gengatharan et al., 2015).

Bit merah mengandung senyawa kimia diantaranya, asam askorbat, karetenoit, asam fenolik, betalain, dan favonoid. Berbagai penelitian menyebutkan bahwa betalain memiliki

antioksidan tinggi dan anti inflamasi secara *invivo* dan *invitro* pada beberapa model hewan coba. Suplemen bit merah dapat mencegah kerusakan oksidatif pada struktur DNA, lipid, dan protein secara *in vitro*. Bit merah terbukti dapat mencegah hipertensi, diabetes dan peradangan dalam tubuh manusia (Clifford et al., 2015; Das et al., 2017). Tujuan Penelitian adalah mengetahui ekstrak Bit merah (*Beta vulgaris L*) meningkatkan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  pada tikus betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok.

## **METODE**

Desain penelitian *true experimental* dengan *post test only with control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sampel penelitian menggunakan hewan coba tikus putih betina (*Rattus Norvegicus*) strain wistar sebanyak 25 ekor. Kriteria inklusi: tikus betina strain wistar, usia 2-3 bulan, berat badan 120-200 gram, sehat dan tidak cacat secara anatomi. Sebelum tikus diberi perlakuan terlebih dahulu di aklimatisasi selama 7 hari untuk penyesuaian dengan lingkungan baru dan diberi pakan, minum setiap secara *adlibitum*.

Tikus dibagi kedalam 5 kelompok secara acak 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Tikus dipapar asap rokok kretek dengan *smoking pump* sebanyak 2 batang perhari pagi dan sore. Bit merah di ekstrak dengan metode maserasi di labaratorium Farmakologi. Selanjutnya tikus diberi perlakuan ekstrak Bit merah (*Beta Vulgaris L*) secara oral dengan dosis KPI 125 mg/KgBB/hari, KPII 250 mg/KgBB/hari, dan KPIII 500 mg/KgBB/hari. Penelitian dilakukan selama 56 hari. Pada hari ke 57 dilakukan pembedahan pada tikus

## Dewita

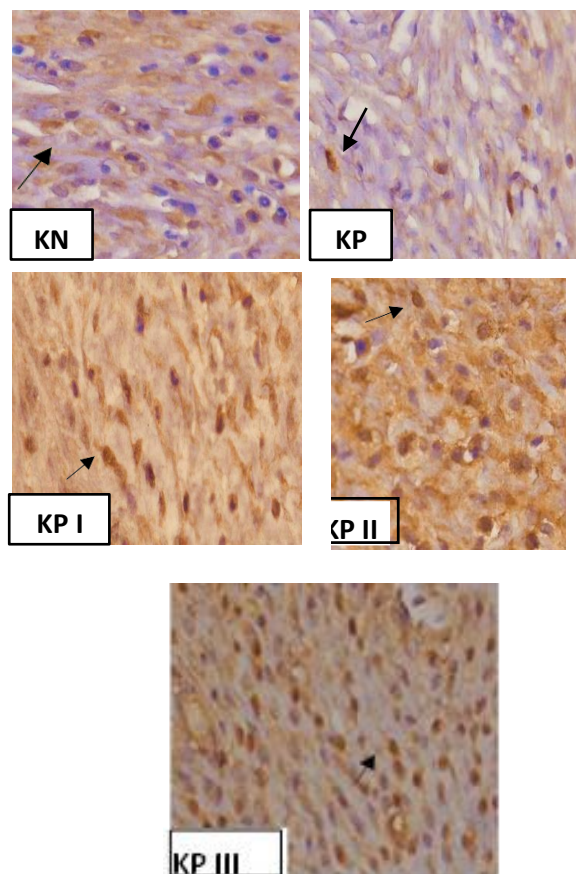
untuk diambil organ endometrium untuk pembuatan preparat. Tikus yang dibedah yang sedang fase proestrus dan dikorbankan dengan cara anastesi Ketamin 1% dosis 0,2 ml di injeksi secara *intraperitoneal*.

Jaringan uterus dipotong secara longitudinal dan transversal dengan ketebalan 2-3 mm kemudian direndam kedalam formalin 10%. Selanjutnya jaringan disayat dengan ketebalan 3-5  $\mu\text{m}$  selanjutnya dilakukan pemeriksaan immunohistokimia untuk ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$ . Pengamatan Ekpresi reseptor estrogen  $\alpha$  di endometrium tikus betina dideteksi menggunakan antibodi tikus Era (D-12): sc-8005. Ekspresi RE- $\alpha$  tampak berwarna coklat pada inti sel endometrium. Pengamatan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  menggunakan foto mikroskop OLYMPUS XC10 dengan pembesaran 400 x pada 10 lapang pandang dan dihitung secara manual. Data di analisis secara statistik menggunakan SPSS. Data di uji menggunakan *One Way Anova* dan uji LSD *Least Significant Difference* (beda nyata terkecil).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  dengan imunohistokimia pada tikus yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak Bit merah diamati melalui foto yang telah di scan dengan mikroskop Olympus XC 10 dengan pembesaran 400x perlapang pandang pada 10 lapang pandang kemudian dihitung secara manual dengan menggunakan *cell count* pada sel-sel yang terekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  yang berwarna coklat di inti sel. Dibawah ini gambar ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$ :

## Ekstrak Bit Merah (*Beta Vulgaris L*).....



**Gambar 1.** Hasil pengamatan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  pada tikus betina yang dipapar asap rokok dan diberi Bit merah (*Beta vulgaris L*). Warna coklat menunjukkan inti sel yang terekspresi. Keterangan: KN Kelompok Kontrol negatif (tanpa perlakuan), KP Kelompok Kontrol Positif (paparan rokok saja), KP Kelompok Perlakuan I (Rokok + Bit merah dosis 125 mg/KgBB/hari), KP II Kelompok Perlakuan II (Rokok + Bit merah dosis 250 mg/KgBB/hari), KP III Kelompok Perlakuan III (Rokok + Bit merah dosis 500 mg/KgBB/hari).

Perbandingan rerata ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  pada kelima kelompok sampel pengamatan dengan menggunakan uji *Anova one way* diperoleh ada perbedaan yang bermakna dengan nilai  $p\text{-value} = 0.000 < \alpha$ . pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) diperoleh secara lengkap pada tabel di bawah ini.

**Tabel 1.**  
**Perbandingan antar kelompok kontrol dan perlakuan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$**

| Kelompok        | Rerata $\pm$ SD               | <i>p-value</i>     |
|-----------------|-------------------------------|--------------------|
| Kontrol Negatif | 161.4 $\pm$ 30.9 <sup>c</sup> |                    |
| Kontrol Positif | 17.7 $\pm$ 5.1 <sup>a</sup>   |                    |
| KPI             | 38.2 $\pm$ 10.9 <sup>a</sup>  | 0.000 $<$ $\alpha$ |
| KPII            | 40.2 $\pm$ 16.2 <sup>a</sup>  |                    |
| KPIII           | 71.1 $\pm$ 15.3 <sup>b</sup>  |                    |

**Keterangan:** Pada rerata $\pm$ sd menunjukkan hasil uji LSD ada perbedaan yang bermakna (*p-value* $<$ 0.05) dan jika tidak ada perbedaan yang bermakna (*p-value* $>$ 0.05).

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa rerata ekspresi reseptor estrogen- $\alpha$  tertinggi pada kelompok kontrol negatif dan yang terendah pada kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa paparan asap rokok pada tikus betina mengakibatkan ekspresi reseptor estrogen- $\alpha$  meningkat. Sedangkan rerata ekspresi reseptor estrogen- $\alpha$  tampak meningkat pada kelompok KPI, KPII, dan KPIII bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Peningkatan ekspresi reseptor estrogen- $\alpha$  terjadi seiring dengan peningkatan dosis ekstrak bit merah (*Beta vulgaris L.*) yang diberikan. Jadi pemberian ekstrak bit merah (*Beta vulgaris L.*) ketiga dosis tersebut mampu meningkatkan ekspresi reseptor estrogen- $\alpha$  pada tikus betina *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok. Sedangkan dosis ekstrak bit merah (*Beta vulgaris L.*) yang dianggap paling cepat menurunkan ekspresi reseptor estrogen- $\alpha$  adalah dosis 500 mg/KgBB/hari. penelitian yang dilakukan oleh Tuttle *et al* (2009), menyebutkan bahwa *benzo(a)pyrene* dalam asap rokok mempengaruhi penurunan hormon estradiol sehingga menyebabkan menurunnya pertumbuhan sel folikel di ovarium. Penelitian yang mendukung juga dilakukan Seyed *et al.*, (2014), bahwa

pemberian nikotin pada tikus, terbukti dapat merubah histologi uterus dan saluran sel telur yang dipengaruhi oleh hormon estradiol menurun sehingga terjadi penurunan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$ . Selain itu tikus yang dipapar asap rokok juga terbukti menurunkan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  di endometrium (Utami, 2016).

Asap rokok mengandung sekitar 4000 senyawa kimia memberi efek tidak baik dan mengandung toksik untuk kesehatan manusia, diantaranya *benzo(a)pyrena*, nitrosamin, kadmium, nikotin (Dechanet *et al.*, 2011), tar, karbon monoksida, nikel amoniak dan sebagainya (Cunningham, 2005; Kinanti dkk, 2016). Asap rokok beresiko tinggi terserang penyakit jantung, dan kanker endometrium (Zhou *et al.*, 2011). Penelitian lain menyebutkan bahwa asap rokok dapat bersifat sebagai anti estrogenik sehingga menyebabkan gangguan haid, memungkinkan terjadi anovulasi pada wanita, infertilitas serta menopause dini (Gannon *et al.*, 2012). Selain itu asap rokok juga dapat mempengaruhi kesehatan reproduksi wanita yang berhubungan dengan penurunan kesuburan pada wanita (Camlin *et al.*, 2014).

Asap rokok memicu ROS meningkat sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi akibat tidak seimbangnya antioksidan dan ROS, sehingga diperlukan antioksidan dari luar tubuh untuk menyeimbangkan keduanya. penelitian yang mendukung bahwa Bit merah (*Beta vulgaris L*) yang berfungsi sebagai antioksidan pada dosis 250 dan 500 mg/KgBB/hari mampu menangkal radikal bebas pada tikus dengan gangguan ginjal nefrotoksik yang di induksi gentamisin (El Gamal *et al.*, 2014).

Estrogen berada didalam darah dan sebagian besar terikat dengan protein plasma dan berdifusi kedalam sel dan nukleus untuk berikatan

dengan reseptor spesifik (Greeinsten & Wood, 2006). Estrogen dapat berikatan dengan reseptornya bila menembus permukaan sel dan masuk ke dalam sel (sitoplasma) kemudian berikatan dengan estrogen dalam sitoplasma dan membentuk ikatan hormon reseptor pada *estrogen responsive element* kemudian bergerak menuju inti sel untuk berikatan dengan DNA. Setelah berikatan dengan DNA maka akan terjadi proses transkripsi untuk membentuk protein-protein khusus yang dibutuhkan dalam pembelahan sel (Sperrof & Fritz, 2005). Jika hormon estrogen tidak ada maka reseptor estrogen akan bersifat inaktif dan berada dalam inti sel target dan berikatan dengan *heat shock* protein. Hormon estrogen yang masuk ke dalam sel target akan berikatan dengan reseptor estrogen yang berada di inti sel sehingga reseptor estrogen menjadi aktif (McDonnel & Norris, 2002).

Bit merah mengandung senyawa kimia diantaranya, asam askorbat, karetenoit, asam fenolik, betalain, dan favonoid. Banyak penelitian menyebutkan bahwa betalain memiliki antioksidan tinggi dan anti inflamasi pada beberapa model hewan coba. Suplemen Bit merah dapat mencegah kerusakan oksidatif pada struktur DNA, lipid, dan protein secara *in vitro*. Bit merah terbukti dapat mencegah hipertensi, diabetes dan peradangan dalam tubuh manusia (Clifford et al, 2015; Das et al., 2017). Berbagai penelitian telah dilakukan, bahwa ekstrak Bit merah berfungsi sebagai antioksidan, anti kanker, antimikroba, anti malaria dan anti inflamasi (Vulić et al., 2014); Gengatharan et al., 2015). Untuk menetralkan ROS berlebihan dalam tubuh maka dibutuhkan antioksidan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ratnawati et al (2014), pemberian alfa *tocopherol* pada tikus betina yang FJK, Vol. 1 No. 1 Desember 2021

dipapar asap rokok, terbukti dapat mencegah stres oksidatif ditandai dengan meningkatnya hormon estrogen. Selain itu pigmen antosianin dari ubi jalar ungu terbukti efektif mencegah stres oksidatif dengan meningkatnya ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  di endometrium tikus betina yang dipapar asap rokok. Penulis berasumsi bahwa hal tersebut dapat mencegah terjadinya infertilitas (Utami, 2016).

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

Pemberian ekstrak Bit merah (*Beta vulgaris L*) terbukti dapat meningkatkan ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  pada tikus betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok. Diharapkan peneliti selanjutnya untuk mengamati kejadian infertilitas pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok dengan intervensi Bit merah (*Beta vulgaris L*).

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Camlin, N. J., McLaughlin, E. A., & Holt, J. E. (2014). Through the smoke: Use of *in vivo* and *in vitro* cigarette smoking models to elucidate its effect on female fertility. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 281(3), 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.10.010>
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4), 2801–2822. <https://doi.org/10.3390/nu7042801>
- Cunningham, F.G., Giant N.F., Leveno K.J., Gilstrap L.C., Hauth J.C., and Wenstrom K.D. 2005. *Obstetri Williams*. Edisi 21. Vol 1. Jakarta. EGC.

- Dechanet, C., Anahory, T., Mathieu Daude, J. C., Quantin, X., Reyftmann, L., Hamamah, S., ... Dechaud, H. (2011). Effects of cigarette smoking on reproduction. *Human Reproduction Update*, 17(1), 76–95. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmq033>
- Departemen Kesehatan RI. 2015. Info Datin Hari tanpa Tembakau Sedunia (<http://www.depkes.go.id/resource/download/pusdatin/infodatin/infodatin-haritanpa-tembakau-sedunia.pdf>). Diakses tanggal 15 Agustus 2017.
- El Gamal, A. A., Alsaid, M. S., Raish, M., Al-Sohaibani, M., Al-Massarani, S. M., Ahmad, A., Rafatullah, S. (2014). Beetroot (*Beta vulgaris L.*) extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity associated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rodent model. *Mediators of Inflammation*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/983952>
- Gannon, A. M., Stämpfli, M. R., & Foster, W. G. (2012). Cigarette smoke exposure leads to follicle loss via an alternative ovarian cell death pathway in a mouse model. *Toxicological Sciences*, 125(1), 274–284. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr279>
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *Lwt*, 64(2), 645–649. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>
- Hiroi, H., Inoue, S., Watanabe, T., Goto, W., Orimo, A., Momoeda, M., Tsutsumi, O., Taketani, Y., and Muramatsu, M. 1996. Differential immunolocalization of estrogen receptor alpha and beta in rat ovary and uterus. *Journal of Molecular Endocrinology*
- Kinanti, V.,N., Yamin, M, Aksara, L., F. 2016. Prototype penyaring asap rokok pada smoking area menggunakan pulse width modulation (PWM) dan Fuzzy Tsukamoto. *SemanTIK*, Vol.2, No.1, Jan-Jun 2016, pp. 195-202 ISSN : 2502-8928.
- Lee, H. M., Kim, C. W., Hwang, K. A., Sung, J. H., Lee, J. K., & Choi, K. C. (2017). Cigarette smoke impaired maturation of ovarian follicles and normal growth of uterus inner wall of female wild-type and hypertensive rats. *Reproductive Toxicology*, 73, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.06.187>
- Mereddy, R., Fanning, K., Chan, A., Sultanbawa, Y., & Nirmal, N. (2016). Betalain rich functional extract with reduced salts and nitrate content from red beetroot (*Beta vulgaris L.*) using membrane separation technology. *Food Chemistry*, 215, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.132>
- Naserzadeh, P., Hosseini, M. J., Asl, B. M., & Pourahmad, J. (2015). Toxicity mechanisms of cigarette smoke on mouse fetus mitochondria. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(September 2014), 131–138. <https://doi.org/10.22037/IJPR.2015.1722>
- Ninfali, P., & Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* cicla and rubra. *Fitoterapia*, 89(1), 188–199. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.06.004>
- Olooto, W. E., Amballi, A. A., & Banjo, T. A. (2012). A review of Female Infertility; Important Etiological Factors and Management. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research Scholars Research Library J. Microbiol. Biotech. Res*, 2(3), 379–385. Retrieved from

<http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>

*sedunia.pdf*). Diakses tanggal 15 Agustus 2017.

- Camlin, N. J., McLaughlin, E. A., & Holt, J. E. (2014). Through the smoke: Use of in vivo and in vitro cigarette smoking models to elucidate its effect on female fertility. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 281(3), 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.10.010>
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4), 2801–2822. <https://doi.org/10.3390/nu7042801>
- Cunningham, F.G., Giant N.F., Leveno K.J., Gilstrap L.C., Hauth J.C., and Wenstrom K.D. 2005. *Obstetri Williams*. Edisi 21. Vol 1. Jakarta. EGC.
- Das, A. K., Adhikari, A., Ray, M., Sur, T. K., Indu, R., & Hazra, A. K. (2017). Antioxidant properties of polyphenolic rich HPLC standardized extract of *Beta vulgaris L.* roots. *International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Sciences*, 6(3), 2619–2624. [https://doi.org/10.21276/ijrdpl.2278-0238.2017.6\(3\).2619-2624](https://doi.org/10.21276/ijrdpl.2278-0238.2017.6(3).2619-2624)
- Dechanet, C., Anahory, T., Mathieu Daude, J. C., Quantin, X., Reyftmann, L., Hamamah, S., ... Dechaud, H. (2011). Effects of cigarette smoking on reproduction. *Human Reproduction Update*, 17(1), 76–95. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmq033>
- Departemen Kesehatan RI. 2015. Info Datin Hari tanpa Tembakau Sedunia (<http://www.depkes.go.id/resource/download/pusdatin/infodatin/infodatin-haritanpa-tembakau-sedunia.pdf>). Diakses tanggal 15 Agustus 2017.
- El Gamal, A. A., Alsaid, M. S., Raish, M., Al-Sohaibani, M., Al-Massarani, S. M., Ahmad, A., Rafatullah, S. (2014). Beetroot (*Beta vulgaris L.*) extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity associated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rodent model. *Mediators of Inflammation*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/983952>
- Gannon, A. M., Stämpfli, M. R., & Foster, W. G. (2012). Cigarette smoke exposure leads to follicle loss via an alternative ovarian cell death pathway in a mouse model. *Toxicological Sciences*, 125(1), 274–284. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr279>
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *Lwt*, 64(2), 645–649. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>
- Hiroi, H., Inoue, S., Watanabe, T., Goto, W., Orimo, A., Momoeda, M., Tsutsumi, O., Taketani, Y., and Muramatsu, M. 1996. Differential immunolocalization of estrogen receptor alpha and beta in rat ovary and uterus. *Journal of Molecular Endocrinology*
- Kinanti, V., N., Yamin, M, Aksara, L., F. 2016. Prototype penyaring asap rokok pada smoking area menggunakan pulse width modulation (PWM) dan Fuzzy Tsukamoto. *SemanTIK*, Vol.2, No.1, Jan-Jun 2016, pp. 195-202 ISSN : 2502-8928.
- Lee, H. M., Kim, C. W., Hwang, K. A., Sung, J. H., Lee, J. K., & Choi, K. C. (2017). Cigarette smoke impaired maturation of ovarian follicles and normal growth of uterus inner wall of female wild-type and



- hypertensive rats. *Reproductive Toxicology*, 73, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.06.187>
- Mereddy, R., Fanning, K., Chan, A., Sultanbawa, Y., & Nirmal, N. (2016). Betalain rich functional extract with reduced salts and nitrate content from red beetroot (*Beta vulgaris L.*) using membrane separation technology. *Food Chemistry*, 215, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.132>
- Naserzadeh, P., Hosseini, M. J., Asl, B. M., & Pourahmad, J. (2015). Toxicity mechanisms of cigarette smoke on mouse fetus mitochondria. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(September 2014), 131–138. <https://doi.org/10.22037/IJPR.2015.1722>
- Ninfali, P., & Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* cicla and rubra. *Fitoterapia*, 89(1), 188–199. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.06.004>
- Olooto, W. E., Amballi, A. A., & Banjo, T. A. (2012). A review of Female Infertility; Important Etiological Factors and Management. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research Scholars Research Library J. Microbiol. Biotech. Res*, 2(3), 379–385. Retrieved from <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Prasad, S., Gupta, S. C., & Tyagi, A. K. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer Letters*, 387, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.03.042>
- POGI (Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia). 2013. *Konsensus penanganan infertilitas*. POGI: Jakarta. Pp.1-17.
- Ratnawati, R.S.N., Saputri, I.N., Ratnawati, R., Soeharto, S., dan Wiyasa, I.W.A. 2014. The effect of Alpha tocopherol on oxidative stress and ovarian function in Rats exposed to tobacco smoke. *Cukorova medical journal*. Vol 39 (2) : 203-312
- Seyed Saadat, S. N., Mohammadghasemi, F., Jahromi, S. K., Homafar, M. A., & Haghiri, M. (2014). Melatonin protects uterus and oviduct exposed to nicotine in mice. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(1), 41–46. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0007>
- Sperrof, L., Glass, R.H., Kase, N. G. 1999. *Clinical Gynecologyc Endocrinology and Infertility* : Lippincott Williams and Wilkins. Edisi 6. P52-66.
- Tuttle, A. M., Stämpfli, M., & Foster, W. G. (2009). Cigarette smoke causes follicle loss in mice ovaries at concentrations representative of human exposure. *Human Reproduction*, 24(6), 1452–1459. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep023>
- Utami, S.W. 2016. Pengaruh antosianin ubi jalar ungu (*Ipomea batata L*) varietas ungu terhadap ekspresi reseptor estrogen  $\alpha$  dan ketebalan endometrium pada uterus tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok. Tesis. Program studi magister kebidanan FKUB Malang
- Vulić, J. J., Ćebović, T. N., Čanadanović-Brunet, J. M., Ćetković, G. S., Čanadanović, V. M., Djilas, S. M., & Tumbas Šaponjac, V. T. (2014). In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, 6(1), 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.10.003>

**Dewita**

- Werdhasari, S. 2014. Peran Antioksidan bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol.3.2: 59-68
- Zhou, Y., Jorgensen, E. M., Gan, Y., & Taylor, H. S. (2011). *Cigarette Smoke Increases Progesterone Receptor and Homeobox A10*

**Ekstrak Bit Merah (Beta Vulgaris L).....**

*Expression in Human Endometrium and Endometrial Cells: A Potential Role in the Decreased Prevalence of Endometrial Pathology in Smokers 1.* 1247(January), 1242-1247.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.087494>